



HAL
open science

Reconnaissance des signaux de communication chez le diamant mandarin : étude des réponses des neurones d'une aire auditive secondaire

Fabien Ménardy

► **To cite this version:**

Fabien Ménardy. Reconnaissance des signaux de communication chez le diamant mandarin : étude des réponses des neurones d'une aire auditive secondaire. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Paris Sud - Paris XI, 2012. Français. NNT : 2012PA11T049 . tel-00764923

HAL Id: tel-00764923

<https://theses.hal.science/tel-00764923>

Submitted on 27 Nov 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



FACULTE DE MEDECINE PARIS-SUD
UNIVERSITE PARIS 11

THESE DE DOCTORAT EN NEUROSCIENCES

Présentée par
Fabien MENARDY

**Reconnaissance des signaux de
communication chez le diamant
mandarin : étude des réponses des
neurones d'une aire auditive secondaire**

Composition du Jury :

<i>Directrice de thèse :</i>	Catherine Del Negro
<i>Rapporteurs :</i>	Nadine Ravel Hugo Cousillas

Préparée au
Centre de Neurosciences de Paris Sud, UMR CNRS 8195
Université Paris Sud, 91405 ORSAY Cedex

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier chaleureusement ma Directrice de Thèse, Catherine Del Negro, pour son soutien et sa disponibilité tout au long de mon travail de thèse. Durant les très nombreux échanges que nous avons pu avoir, Catherine a toujours été très patiente et pédagogue pour me guider dans l'apprentissage de l'électrophysiologie, les analyses à effectuer ainsi que les tests statistiques qui vont avec. Je la remercie également vivement de m'avoir permis d'assister à de nombreux congrès, nationaux et internationaux, ainsi que d'avoir favorisé un déplacement d'une semaine en Angleterre pour me former sur l'analyse des données électrophysiologiques. Je n'oublie pas non plus toutes les discussions que cette collaboration nous a permis d'avoir.

Je remercie sincèrement Nadine Ravel et Hugo Cousillas d'avoir accepté d'être mes rapporteurs et d'évaluer mon travail de thèse, ainsi que tous les membres de mon jury.

J'adresse mes remerciements à Nicolas Mathevon et Clémentine Vignal pour leurs accueils chaleureux à chacun de mes déplacements à Saint-Etienne, ainsi que pour les échanges que nous avons pu avoir sur le diamant mandarin et notamment sur le comportement et l'acoustique des cris.

Je remercie particulièrement toutes les personnes du laboratoire qui m'ont aidé durant ma thèse. Je pense notamment à Gérard Dutrieux qui a développé le système de télémétrie et qui m'a beaucoup aidé à sa mise au point au début de mes expériences. Merci également à Bruno Bozon pour ses conseils et son aide en programmation. Merci aussi à Calette et Nathalie pour les soins qu'elles ont prodigué aux oiseaux et leur aide dans la mise en couple et la reproduction des diamants mandarins. Je garderai un très bon souvenir des repas animés du midi avec Bruno Calette et Nathalie et je les remercie de leur amitié durant toutes ces années passées au laboratoire et en dehors.

Enfin, j'adresse un profond remerciement à Aurélie ainsi qu'à mes parents, ma sœur et toute ma famille pour m'avoir toujours épaulé et soutenu tout au long de ma scolarité et particulièrement durant ces dernières années. J'ai une pensée affectueuse pour mon grand-père Honoré qui nous a quittés avant de pouvoir voir la fin de mon cursus. Je suis très reconnaissant également à tous mes amis, niçois, marseillais et parisiens, qui m'ont aidé, par leur présence, leur message et leur soutien moral à clôturer ces dernières années.

Chapitre 1. Introduction générale.....	3
1.1 Introduction générale.....	5
1.2 Audition et communication vocale.....	6
1.2.1 <i>Les signaux acoustiques de communication</i>	6
1.2.2 <i>Le système nerveux auditif</i>	7
1.2.2.1 Organisation.....	7
1.2.2.2 Propriétés des neurones auditifs chez les mammifères	9
1.3 Modèle d'étude : l'oiseau chanteur.....	12
1.3.1 <i>Communication chez l'oiseau chanteur</i>	12
1.3.2 <i>Bases neurales du traitement auditif chez l'oiseau</i>	13
1.3.2.1 Neuro-anatomie.....	13
1.3.3 <i>Codage des signaux acoustiques dans le télencéphale</i>	15
1.3.3.1 Au niveau du champ L.....	15
1.3.3.2 Au niveau d'une aire auditive secondaire, le NCM.....	15
1.3.4 <i>Le diamant mandarin, un oiseau social</i>	19
1.3.4.1 Reconnaissance individuelle à partir des cris.....	19
1.3.4.2 Rôle du contexte social	21
1.4 Objectif des études.....	22
Chapitre 2. Techniques et méthodes générales	25
2.1 Sujets.....	27
2.2 Groupes expérimentaux.....	27
2.3 Stimuli auditifs.....	27
2.3.1 <i>Enregistrements des vocalisations</i>	28
2.3.2 <i>Présentations des vocalisations</i>	28
2.4 Enregistrements électrophysiologiques	29
2.4.1 <i>Enregistrements chroniques sur animal vigile</i>	29
2.4.2 <i>Enregistrements aigus sous anesthésie</i>	30
2.4.2.1 Chirurgie.....	30
2.5 Analyse des données	30
2.5.1 <i>Mesure de la force des réponses</i>	31
2.5.2 <i>Sélectivité des cellules</i>	32
2.5.3 <i>Statistiques</i>	33
Chapitre 3. Réponses des neurones du NCM à la présentation de cris : effet de la familiarisation	35
3.1 Introduction.....	37
3.2 Techniques et méthodes.....	37
3.3 Études des réponses des neurones du NCM à la présentation de cris : chez les femelles.....	39
3.3.1 <i>Réponses aux cris de mâles</i>	39
3.3.1.1 Résultats	39
3.3.1.2 Conclusion.....	40
3.3.2 <i>Réponses aux cris de femelles</i>	56
3.3.2.1 Introduction	56
3.3.2.2 Réponses auditives chez les femelles vigiles.....	56
3.3.2.3 Chez les femelles anesthésiées	58

3.3.2.4 Comparaisons des réponses aux vocalisations de mâles et femelles	61
3.3.3 <i>Discussion des résultats obtenus chez les femelles</i>	67
3.4 Étude des réponses des neurones du NCM à la présentation de cris : chez les mâles	70
3.4.1 <i>Introduction</i>	70
3.4.2 <i>Réponses des neurones du NCM aux cris de femelles chez les mâles mandarins</i>	70
3.4.2.1 Chez les mâles vigiles en couple	70
3.4.2.2 Chez les mâles anesthésiés en couple et contrôles	72
3.4.3 <i>Réponses des neurones du NCM aux cris de mâles</i>	75
3.4.3.1 Chez les mâles vigiles vivant en couple	75
3.4.3.2 Chez les mâles anesthésiés vivant en couple et contrôles	75
3.4.3.3 Comparaisons des réponses aux vocalisations de mâles et de femelles chez les mâles	78
3.4.4 <i>Discussion des résultats obtenus chez les mâles</i>	81
3.5 Comparaison des réponses aux cris entre les mâles et les femelles	84
3.5.1 <i>Introduction</i>	84
3.5.2 <i>Comparaison de l'activité spontanée des neurones</i>	84
3.5.3 <i>Comparaison de la force des réponses des neurones</i>	84
3.5.4 <i>Discussion</i>	87
Chapitre 4. Effet du contexte social sur les réponses des neurones du NCM chez les mâles	89
4.1 <i>Introduction</i>	91
4.2 <i>Techniques et méthodes</i>	93
4.3 <i>Effet du contexte social sur les réponses</i>	95
4.3.1 <i>Aux cris de femelles</i>	95
4.3.2 <i>Aux cris de mâles</i>	97
4.3.3 <i>Effet de la présentation des cris de distance pendant plusieurs jours</i>	99
4.4 <i>Discussion</i>	101
Chapitre 5. Étude des propriétés auditives des neurones du NCM	103
5.1 <i>Introduction</i>	105
5.2 <i>Techniques et méthodes</i>	106
5.3 <i>Résultats chez les femelles</i>	113
5.3.1 <i>Réponses aux cris modifiés en fréquence</i>	113
5.3.2 <i>Réponses aux cris dont le timbre a été modifié</i>	114
5.3.3 <i>Réponses aux cris sans modulation d'amplitude</i>	114
5.3.4 <i>Réponses aux différentes parties des cris</i>	117
5.4 <i>Résultats chez les mâles</i>	119
5.4.1 <i>Réponses aux cris modifiés en fréquence</i>	119
5.4.2 <i>Réponses aux cris dont le timbre a été modifié et aux cris sans modulation d'amplitude</i>	121
5.4.3 <i>Réponses aux différentes parties des cris</i>	121
5.5 <i>Discussion</i>	125
Chapitre 6. Discussion générale	131
Chapitre 7. Bibliographie	141

Chapitre 1.

Introduction générale

1.1 Introduction générale

Comment sont reconnus, catégorisés et identifiés les signaux sonores au niveau cérébral est une des grandes questions qui reste encore à être largement explorée en neurosciences. Une des fonctions du système nerveux central est la reconnaissance des différents sons de l'environnement qui ont une signification pour l'individu. Cette capacité de discrimination et d'identification est d'autant plus impressionnante que la richesse de l'environnement sonore est saisissante. Par exemple, en ce qui nous concerne, à tout moment, nous pouvons suivre une conversation alors qu'il peut y avoir autour de soi le bruit d'un ordinateur, de l'eau qui coule ou bien une porte qui claque.

Les signaux sonores peuvent jouer un rôle crucial, notamment chez les espèces qui utilisent des signaux acoustiques vocaux pour communiquer. Chez ces espèces reconnaître avec précision les différents signaux acoustiques est primordial pour la survie et les signaux vocaux de communication, comme la parole chez l'humain et les vocalisations chez de nombreuses espèces animales, représentent une source importante d'information. En effet, chez les espèces sociales, pour lesquelles l'interaction avec les congénères est une part majeure de leur comportement, les signaux vocaux peuvent transmettre des informations sur les individus émetteurs et être ainsi utilisés pour reconnaître avec précision les congénères. Par exemple, lorsque nous écoutons quelqu'un de familier parler, nous ne comprenons pas seulement ce qu'il dit, nous reconnaissons aussi sa voix, même s'il parle plus fort ou plus rapidement. De la même façon, de nombreuses études ont montré que les individus de différentes espèces animales étaient capables d'identifier des congénères sur la base de leurs vocalisations, alors que ces vocalisations n'étaient pas toujours reproduites à l'identique.

Pour réaliser un tel traitement des signaux acoustiques de communication, qui permet en fin de compte de reconnaître le message et d'identifier l'émetteur du message, les aires auditives vont être mises en jeu. Mais, comment l'activité des neurones auditifs conduit à la discrimination entre les signaux vocaux de communication reste encore à être étudiée. En d'autres termes, comment le codage sensoriel des signaux acoustiques de communication conduit à leur détection et à leur reconnaissance reste encore à être déterminé. De plus, très peu d'études se sont penchées sur le codage des vocalisations en fonction de l'individu qui les produit.

Actuellement, une des idées-clé est l'idée selon laquelle, chez les espèces qui communiquent en utilisant des signaux acoustiques, le traitement auditif serait spécialisé dans la reconnaissance des sons (et combinaisons de sons) qui composent les vocalisations de l'espèce. Chez l'humain adulte, des nombreux travaux ont montré que l'audition est spécialisée dans la reconnaissance de la langue maternelle (pour revues, Strange, 1995; Pallier et al., 1997).

C'est dès le plus jeune âge que cette spécialisation se met en place (Werker and Tees, 1984; Kuhl et al., 1992). À la naissance le bébé discrimine spontanément tous les sons des langues humaines. Vers 12 mois, il est devenu moins sensible à certaines distinctions qui ne sont pas présentes dans son environnement bien qu'il conserve la capacité de réapprendre ces sons plus tard (Werker and Tees, 1992). En outre le nouveau-né va rapidement apprendre à reconnaître sa mère par le biais de sa voix. Ainsi l'enfant devient donc rapidement un expert dans la reconnaissance des signaux ayant une signification pour lui, soit ici sa langue maternelle et la voix de sa mère.

Au-delà de cette spécialisation, il faut prendre en compte qu'au cours de la vie certains signaux peuvent acquérir une signification. La reconnaissance de la voix de nouveaux congénères en est un des exemples. Cela suppose la mise en jeu de phénomènes de plasticité qui permettent de reconnaître les signaux devenus pertinents. Aujourd'hui, de nombreux travaux ont montré que le système nerveux est capable de se remodeler quel que soit le niveau d'organisation pris en compte (réseau de neurones, neurone, synapse). Parmi ces travaux, certains consacrés à la plasticité sensorielle ont montré que l'acquisition d'une signification pour un son peut s'accompagner d'un changement dans son codage. Ainsi, au niveau du cortex auditif primaire chez les mammifères, cela s'accompagne d'une augmentation du nombre de neurones répondant préférentiellement à ce son (Edeline et al., 1993; Weinberger, 2004a). Aussi, si le nombre de neurones du cortex auditif primaire répondant préférentiellement au son est impliqué dans le codage de la pertinence d'un son, l'étude des phénomènes de plasticité peut donc non seulement nous indiquer dans quelle mesure le fonctionnement du système nerveux est susceptible de s'adapter, mais également nous révéler comment les signaux sont codés.

C'est l'approche que j'ai suivie dans cette thèse qui s'inscrit dans le cadre des études des bases neurales de la reconnaissance de signaux vocaux de communication. Mon but a été d'étudier plus particulièrement comment sont codées les vocalisations en fonction de l'individu qui les produit, familier ou inconnu. En étudiant comment le codage des vocalisations d'individus familiers se distinguent de celles d'individus non familiers, l'idée est de révéler quels sont les aspects de ce codage qui pourrait permettre la reconnaissance des vocalisations.

1.2 Audition et communication vocale

1.2.1 Les signaux acoustiques de communication

Pour comprendre comment le cerveau traite les signaux acoustiques de communication il faut tout d'abord comprendre quels sont les paramètres et les combinaisons de paramètres qui codent ces signaux. Les sons se propagent dans le milieu sous forme d'ondes caractérisées par leur fréquence, leur intensité et leur durée. Le temps est, en ce qui concerne les stimuli sonores,

une dimension étroitement liée aux deux autres. En effet, la plupart des sons de notre environnement sont des sons complexes, c'est-à-dire que la fréquence ou l'amplitude d'un son peut varier au cours du temps, c'est ce que l'on appelle une modulation de fréquence et d'amplitude. De plus, les sons peuvent être constitués de plusieurs fréquences qui sont des multiples d'une fréquence appelée la fréquence fondamentale, on parle alors d'harmoniques (fig. 1).

C'est notamment le cas de la voix. En effet, cette dernière correspond aux oscillations des cordes vocales à une fréquence bien précise : la fréquence fondamentale (f_0). Cette fréquence est fonction de la taille des cordes vocales et donc varie selon les individus. La gamme de fréquence de la parole humaine entre 85hz et 4000Hz. Ensuite le tractus vocal au-dessus du larynx agit comme une caisse de résonance pour créer les différents harmoniques, appelées «formants» chez l'homme, et agit également comme un filtre en renforçant certaines de ces fréquences. On appelle la répartition d'énergie sur les différents harmoniques, ou formants, le timbre. Ainsi, la structure en fréquence de la voix ainsi que le timbre sont propre à un individu donné et véhiculent donc des informations sur l'identité de celui-ci (Latinus and Belin, 2011).

Un signal sonore se caractérise donc par de nombreux paramètres acoustiques que le receveur devra percevoir et reconnaître. Dans le but de comprendre comment les signaux complexes et naturels, comme les vocalisations, sont perçus et reconnus nous pouvons donc nous poser la question : comment les neurones du système auditif codent ces différents paramètres ?

1.2.2 Le système nerveux auditif

1.2.2.1 Organisation

Brièvement, chez les mammifères comme chez les oiseaux, quand un son est transmis à la cochlée, qui est l'organe auditif, il met en mouvement une membrane qui, à son tour, fait bouger des cellules dites ciliées qui sont les récepteurs de la cochlée. C'est la (ou les) fréquence(s) du son qui va (vont) déterminer quelles sont les cellules qui vont être activées. En effet, les cellules ciliées ne sont sensibles qu'à une gamme limitée de fréquence et elles sont organisées de manière topographique : depuis la base jusqu'à la partie apicale, la fréquence qui les active va en diminuant. Ainsi, les cellules ciliées de la base traduisent les sons de haute fréquence en signal nerveux, alors que celles de la partie apicale codent les basses fréquences. Cette organisation particulière qui s'appelle la tonotopie, est conservée au niveau des différentes régions du circuit qui transmet les informations auditives jusqu'au cortex auditif primaire puis secondaire. Ainsi toutes les fréquences du signal acoustique seront représentées par l'activité de neurones sélectifs pour ces fréquences, organisés de manière à fournir une carte d'activation basée sur la fréquence.

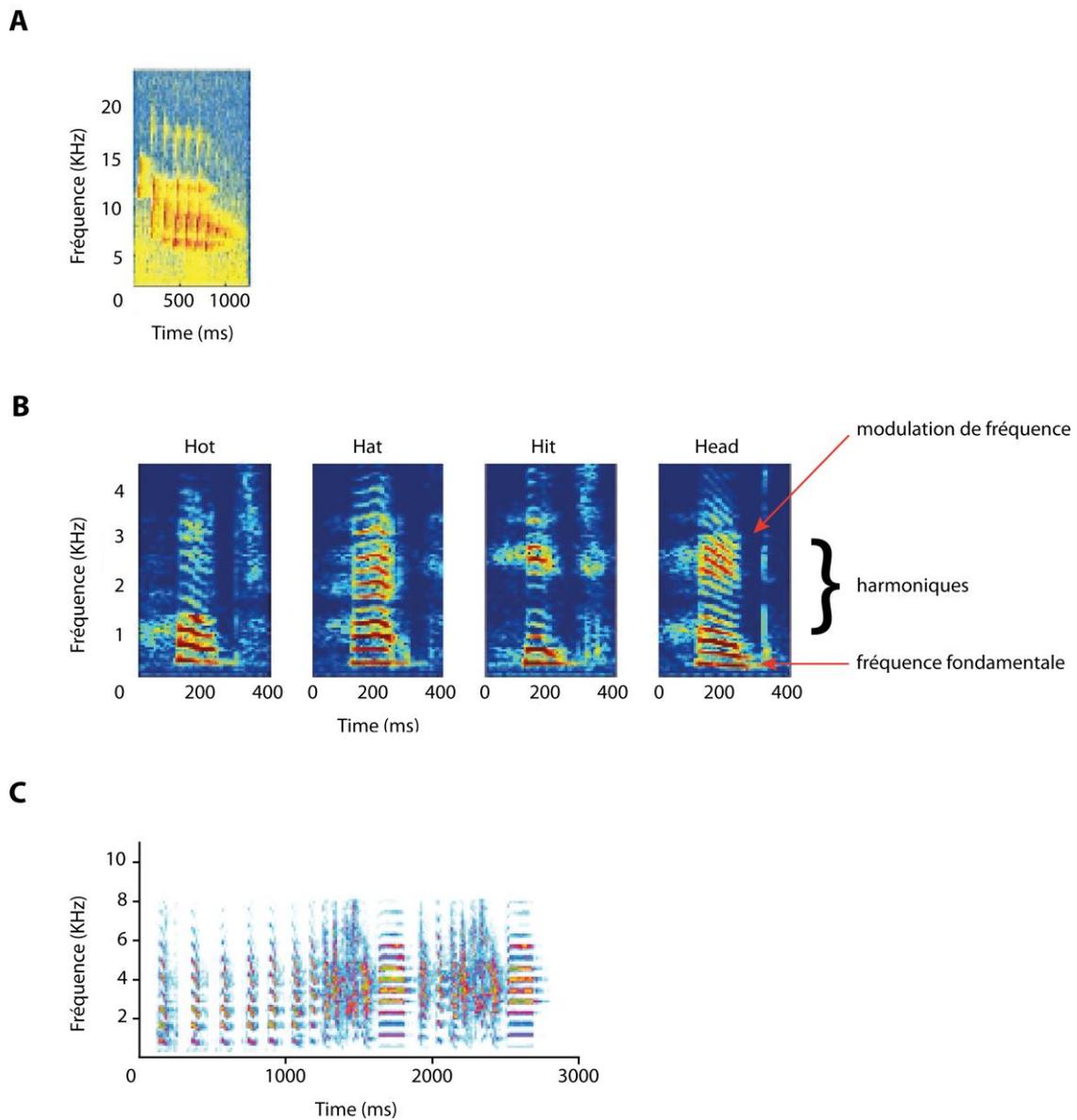


Figure 1 : Spectrogrammes (fréquence en fonction du temps) du « twitter call » de ouistiti (A), de 4 mots prononcés par un Homme (B) et enfin d'un chant de diamant mandarin (C). On peut distinguer la structure en harmoniques des différentes vocalisations ainsi que la répartition en énergie sur chacune d'elles (gradient de couleur). La figure A est tirée de Wang & Kadia (2001) et la figure B de Schnupp et al., (2011).

L'augmentation de l'intensité d'un stimulus provoque non seulement une augmentation de la fréquence de décharge des potentiels d'action des neurones du cortex auditif mais également l'activation des neurones qui codent des fréquences voisines de celles dont est composé le signal (phénomène de recrutement).

1.2.2.2 Propriétés des neurones auditifs chez les mammifères

Les premières études sur les mécanismes centraux de la perception auditive se sont focalisées sur les propriétés auditives des neurones, autrement dit à quels paramètres acoustiques d'un son répondent les neurones des différents noyaux.

Dans les années 80, l'utilisation de vocalisations de l'espèce ont permis de déterminer que les neurones répondaient fortement à de tels signaux acoustiques (McCasland and Konishi, 1981; Margoliash, 1983). S'en sont suivies des études qui ont cherché à déterminer si les neurones répondaient plus à ces vocalisations diffusées à l'endroit qu'à l'envers. L'inversion temporelle modifie le sens des modulations de fréquence et d'amplitude du signal mais permet de conserver la composition en fréquence des stimuli ainsi que la distribution de l'énergie sur les harmoniques. Cela permet d'étudier les propriétés auditives des neurones en déterminant s'ils sont notamment sensibles à un paramètre précis contenu dans le signal, ou s'ils sont sensibles à un enchaînement précis de modulation de fréquence. Chez le ouistiti (*Callithrix jacchus*), une espèce de primate, Wang et ses collaborateurs (Wang et al., 1995) rapportent que les neurones du cortex auditif primaire répondaient plus à un type de cri (twitter) diffusé à l'endroit qu'à l'envers. Restait à déterminer si ces différences dans les réponses des neurones étaient dues aux différences dans la structure acoustiques entre les stimuli, ou si elles découlaient de la différence de la signification pour les individus entre les signaux. Pour cela, en 2001, Wang et Kadia ont comparé les réponses des neurones au cri de ouistiti diffusé à l'endroit et à l'envers dans le cortex auditif primaire de chats, avec celles obtenues pour les mêmes signaux dans le cortex auditif primaire de ouistiti. De cette manière les auteurs ont pu montrer que chez le chat la préférence pour les cris non inversés était absente, et que bien que les réponses des neurones du cortex primaire des chats et des ouistitis étaient comparables pour les vocalisations inversées, les neurones chez le ouistiti répondent plus fortement au cri « twitter » naturel que ceux chez les chats. Cette différence dans les représentations des vocalisations entre les deux espèces suggère qu'il existe chez chaque espèce des mécanismes impliqués dans le traitement des signaux de communication propre de l'espèce.

Toutefois, ces études étaient basées sur l'analyse du nombre de potentiels d'action émis pendant la présentation des vocalisations et des travaux réalisées chez d'autres espèces de mammifères n'ont pas mis en évidence une telle préférence (singe-écureuil, Glass and Wollberg, 1983a, 1983b; chat, Gehr et al., 2000). Par exemple, dans le cortex auditif primaire du chat, la

majeure partie des neurones répondent au début de la présentation des vocalisations et la quantité d'information conduite par le taux de décharge n'est pas forcément suffisante pour permettre une discrimination entre les vocalisations présentées à l'endroit et à l'envers (Gehr et al., 2000). Ainsi, fut avancée l'idée que le codage des vocalisations sur leur aspect temporel pouvait être plus efficace que le codage par le nombre de potentiel d'action. Dans cette perspective, des études chez différentes espèces ont montré que les patterns temporels de décharges des neurones différaient entre les vocalisations naturelles et présentées à l'envers et ce même pour des neurones présentant des taux de décharge similaires entre les vocalisations naturelles et inversées (Schnupp et al., 2006; Huetz et al., 2009).

Au-delà du cortex auditif primaire, ce n'est que plus récemment que des études ont examiné les propriétés des neurones. Au niveau du cortex auditif secondaire les neurones répondent peu à des sons purs. Rauschecker et al., (1995) ont montré que chez le macaque rhésus les neurones de cette région, répondaient fortement aux vocalisations de l'espèce. Près de 89% des neurones répondaient à certaines vocalisations plutôt qu'à d'autres et un peu plus de la moitié des neurones répondaient plus à des sons se rapprochant des vocalisations d'un point de vue acoustique (sons constitués d'harmoniques ou des vocalisations bruitées) qu'à des sons non naturels (sons purs ou des bruits). Ces résultats suggèrent donc qu'au-delà du cortex auditif primaire commence à émerger une spécialisation pour les caractéristiques acoustiques qui composent les vocalisations de l'espèce.

Chez l'humain des études d'imagerie cérébrale ont montré que des régions du cortex temporal supérieur étaient plus activées lors de la diffusion des signaux vocaux humains que de signaux non vocaux. Une activation plus importante a été observée lors de la diffusion de stimuli tels que des mots, émis par un homme ou femme, que lors de la diffusion des cris d'animaux ou de sons mécaniques ou provenant de l'environnement (Belin et al., 2000, 2004). À partir de là, comme parmi les stimuli auditifs figuraient des mots, s'est posé la question de savoir si chez le singe qui n'utilise pas le langage oral, une ou plusieurs régions montraient une telle sensibilité pour les vocalisations de l'espèce. En faisant appel à une technique d'imagerie cérébrale par résonance magnétique à haute résolution, Petkov et al., (2008) ont mis en évidence chez le macaque qu'une région du cortex temporal supérieur dans sa partie antérieure était sensible aux vocalisations de l'espèce. Cette région répondait plus aux sons émis par différents macaques qu'à des vocalisations d'autres espèces ou à des sons de l'environnement ou bien même à des sons ayant le même spectre de fréquence et la même durée que les cris. De plus, ce que cette étude a révélé, et qui n'avait jusque-là jamais été mis en évidence, est le fait que cette région était impliquée dans un traitement qui pourrait permettre de distinguer les individus sur la base de leur voix. Cette région montre une activation plus importante lors de la répétition d'un cri émis par différents individus que lors de la répétition de différents cris émis par un même individu.

Ainsi donc, chez le primate non-humain, une région du cortex temporal pourrait être impliquée dans la reconnaissance des individus sur la base de leurs vocalisations.

L'idée qu'émerge une spécialisation des signaux ayant une signification repose également des études montrant que les propriétés auditives des neurones du cortex auditif primaire peuvent se modifier et s'adapter aux stimuli acoustiques de l'environnement. Au milieu des années 80, des études se sont intéressées à savoir comment l'apprentissage peut influencer sur le traitement et la représentation de signaux acoustiques dans le cortex auditif primaire. Les réorganisations des représentations corticales interviennent tout au long de la vie et reflètent la capacité d'un individu à acquérir de nouvelles capacités de discrimination (Edeline et al., 1993; Merzenich and DeCharms, 1996; Weinberger, 2004a). Nombreuses d'entre elles ont utilisé des tâches de conditionnement opérant avec renforcement où l'animal devait discriminer entre deux sons pour avoir un renforcement positif (Recanzone et al., 1993; Weinberger, 2003; Witte and Kipke, 2005). Chez le Singe de nuit (*Aotus trivirgatus*), il a été démontré que dans le cortex auditif primaire, l'entraînement des individus dans une tâche de discrimination de sons de fréquences différentes, augmente l'aire corticale représentant les fréquences à discriminer, la finesse du « tuning » (gamme de fréquence à laquelle les neurones répondent), ainsi qu'une diminution des latences de réponse pour les fréquences d'intérêt (Recanzone et al., 1993).

Ces études de plasticité suggèrent que la pertinence d'un signal acoustique pour un individu puisse changer et qu'un entraînement ou un conditionnement puisse avoir un effet sur le traitement cortical des signaux. Cependant, que se passe-t-il dans le contexte de communication entre congénères, où la signification des stimuli est guidée par l'interaction sociale ? Peu d'études ont à ce jour abordé cette question.

En 2007, Liu & Schreiner ont montré que les latences des réponses des neurones du cortex auditif primaire étaient plus courtes suite à la diffusion de cri de souriceaux chez les souris qui avaient eu des jeunes que chez des souris n'en ayant jamais eu. De plus, la quantité d'information portée par les trains de potentiels d'action des neurones (mesurée en bits) est plus élevée chez les souris ayant eu des jeunes que chez les autres. En 2009, Galindo-Leon et al., ont mis en évidence que l'écoute des cris des souriceaux provoquait une inhibition plus forte des neurones codant les gammes de fréquences autour de celle des cris des jeunes (60 à 80kHz), chez les souris ayant eu des jeunes que chez des souris n'en ayant jamais eu. Cette différence entre les souris vierges et celles ayant eu des jeunes suggère que l'inhibition des bandes de fréquences latérales peut améliorer la détection et la reconnaissance des cris de jeunes notamment en augmentant le contraste entre les réponses évoquées par les neurones codant les hautes fréquences (dans lesquelles sont comprises les vocalisations des souriceaux) et les réponses des neurones codant des sons de fréquences différentes comme le bruit de fond.

L'ensemble de ces phénomènes montre qu'il existe une plasticité corticale favorisant la détection et la discrimination des signaux de communication ayant une signification pour l'individu. La majorité des enregistrements de ces études a été réalisée dans le cortex auditif primaire, et très peu dans le cortex auditif secondaire. Ainsi, reste à déterminer précisément comment sont représentés les signaux qui ont une signification au-delà du cortex auditif primaire, comme par exemple les vocalisations d'un individu connu par rapport à celles d'un individu inconnu.

1.3 Modèle d'étude : l'oiseau chanteur

1.3.1 Communication chez l'oiseau chanteur

Actuellement les oiseaux sont considérés comme un modèle animal d'étude de la perception des signaux de communication de l'espèce. Les vocalisations des oiseaux chanteurs présentent de nombreuses similitudes avec la parole humaine autant du point de vue de la production que de la perception (pour revues, Doupe and Kuhl, 1999; Berwick et al., 2011).

Chez la majeure partie des espèces d'oiseaux chanteurs on distingue deux grandes catégories de signaux acoustiques de communication, les cris et les chants, qui diffèrent non seulement par leur aspect acoustique mais également en termes de fonction et d'apprentissage. Les cris et les chants des oiseaux jouent un rôle prépondérant dans leurs relations sociales. Les cris peuvent être émis pour prévenir d'un danger, d'une intrusion dans un territoire ou bien encore pour signaler sa présence ou garder le contact social. Quant aux chants ils sont chez de nombreuses espèces utilisés par les mâles pour attirer les femelles durant les périodes de reproduction, ou pour la défense de leur territoire. Les cris sont habituellement des éléments, ou notes, isolés et de courte durée alors que les chants sont des enchaînements de plusieurs notes, ou syllabes, successives et séparées par des intervalles de silence.

Au sein d'une même espèce les chants présentent une syntaxe, les syllabes qui composent le répertoire de l'oiseau sont arrangées temporellement de manière bien précise propre à l'espèce (fig. 2)(Berwick et al., 2011). D'une manière générale, il a été démontré que chez l'oiseau chanteur les vocalisations véhiculent de l'information sur l'identité de l'émetteur et ce à différents niveaux d'identité comme l'espèce, le groupe d'appartenance, et enfin l'individualité (Hausberger et al., 1995; Hausberger, 1997; Mathevon and Aubin, 2001; Charrier et al., 2004; Aubin et al., 2007).

1.3.2 Bases neurales du traitement auditif chez l'oiseau

Depuis les années 70, et les travaux de F. Nottebohm (Nottebohm and Arnold, 1976; Nottebohm et al., 1976), de nombreuses études neuro-anatomiques ont permis de montrer que les oiseaux chanteurs possèdent un ensemble d'aires cérébrales impliquées dans le traitement des vocalisations ainsi que dans la production et l'apprentissage du chant.

1.3.2.1 *Neuro-anatomie*

D'un point de vue historique, les études se sont d'abord focalisées sur les régions impliquées dans la production du chant et ont permis de caractériser deux circuits distincts et complémentaires (Nottebohm et al., 1976; Bottjer et al., 1984; Scharff and Nottebohm, 1991; Vates and Nottebohm, 1995; pour revue, Jarvis, 2007). Le premier circuit correspond au contrôle moteur du chant et comprend notamment deux noyaux, le HVC (acronyme) et le Robust nucleus of the Arcopallium (RA). Après une lésion d'un de ces deux noyaux, les oiseaux ne chantent plus. Le second circuit est vu comme un circuit d'apprentissage, il comprend des régions comme la partie latérale du noyau magnocellulaire du nidopallium antérieur (LMAN) et l'aire X, régions analogues aux ganglions de la base chez les mammifères, et dont les lésions chez le juvénile altèrent le développement et l'apprentissage du chant.

Ensuite les études se sont portées sur les régions impliquées dans le traitement auditif des signaux acoustiques. Comme chez les mammifères, il existe des voies directes et des voies indirectes reliant le noyau cochléaire aux noyaux du tronc cérébral (Theunissen and Shaevitz, 2006). À ce niveau, ces voies convergent vers le noyau dorso-latéral du mésencéphale (MLd), qui est l'analogue du colliculus inférieur (IC) des mammifères.

Ensuite le MLd projette vers l'ovoidalis (Ov) du thalamus, qui projettera à son tour dans le télencéphale au niveau d'une région appelée le champ L, analogue du cortex auditif primaire chez les mammifères. Le champ L se subdivise en plusieurs sous-régions (L1, L2a, L2b, L3). L1 et L3 relient le cortex auditif primaire à deux aires, le nidopallium caudo-médian (NCM) et le mesopallium caudal (CM), équivalentes aux aires auditives secondaires chez les mammifères (fig. 3).

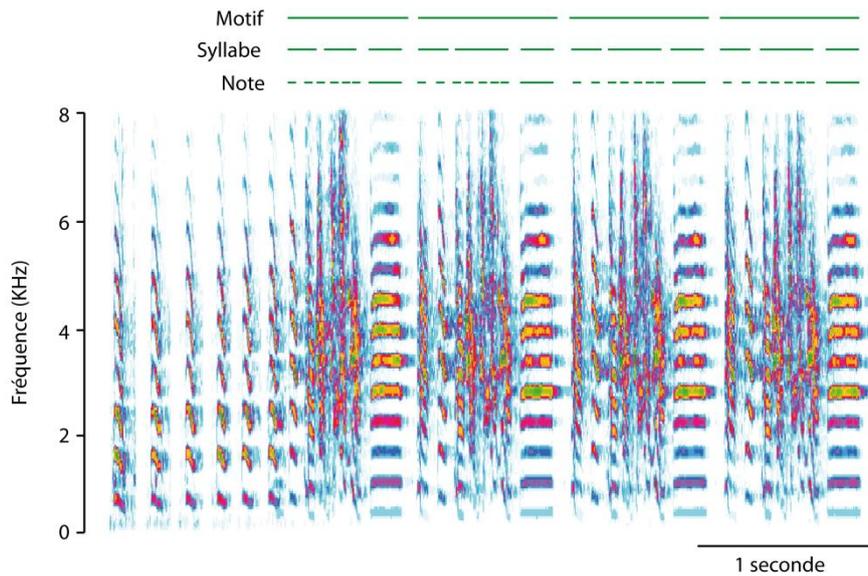


Figure 2 : Spectrogramme d'un chant de diamant mandarin mâle. Le début du chant correspond à des notes introductives, suivies de motifs composés de plusieurs syllabes et répétés plusieurs fois.

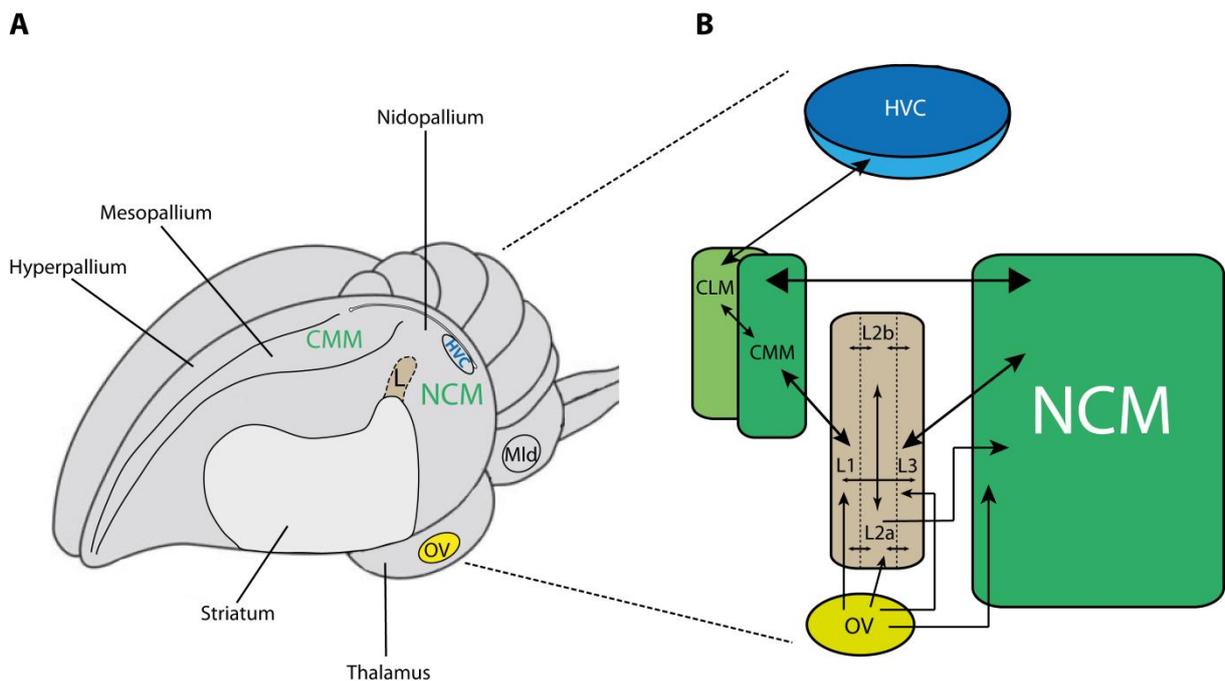


Figure 3 : Schéma du système auditif cérébral des oiseaux chanteurs (A) et des connexions entre les différentes aires auditives (B). En jaune est représenté l'Ovoidalis (Ov), une région du thalamus auditif. En marron sont représentés le champ L et ses différentes subdivisions, qui sont analogues aux aires auditives primaires chez les mammifères. En vert il s'agit des aires analogues aux aires auditives secondaires des mammifères : le nidopallium caudomedian (NCM) ainsi que le mesopallium caudomedian (CMM) et le mesopallium caudo lateral (CLM). Ce dernier projette sur le HVC (en bleu) qui fait partie des noyaux de la production du chant.

1.3.3 Codage des signaux acoustiques dans le télencéphale

1.3.3.1 Au niveau du champ L

Au sein du champ L, une grande partie des neurones répondent à des sons complexes mais aussi à des sons purs et, comme au niveau du cortex auditif primaire des mammifères, ces réponses sont organisées selon une tonotopie (Müller and Leppelsack, 1985; Gehr et al., 1999). De plus, pour la plupart des neurones du champ L, leurs réponses à des signaux complexes, comme des chants, peuvent s'expliquer par leurs réponses à certains signaux acoustiques simples (Müller and Leppelsack, 1985).

Si cette idée a d'abord reposé sur une étude au cours de laquelle des signaux acoustiques simples et plus complexes étaient utilisés (Müller and Leppelsack, 1985), de nouveaux arguments ont été récemment apportés par des études faisant appel à une autre approche méthodologique. Cette approche consiste à enregistrer les réponses des neurones à un très grand nombre de signaux complexes différents, comme les chants, pour en déduire à quels paramètres acoustiques étaient sensibles les neurones, et à partir de là, d'essayer de prédire comment répondra un neurone lors de la présentation d'un stimulus donné et mesurer la corrélation entre la prédiction et les réponses observées (méthode des STRF, spectro-temporal receptive field). C'est cette approche qu'ont utilisé Sen et al., (2001) en enregistrant les réponses des neurones auditifs au niveau du champ L à un grand nombre de chant d'individus conspécifiques. De cette manière, ils ont pu montrer qu'au sein du champ L, certains neurones répondent à des éléments simples du son, comme une gamme de fréquence, alors que d'autres répondent à des combinaisons de fréquence (harmoniques) ou bien à des modulations de fréquences particulières. De plus, les chants sont très riches en modulation d'amplitude et certains neurones répondront à une modulation d'amplitude montante ou descendante, alors que d'autres seront sélectifs pour des modulations d'amplitude lentes ou rapides. Par conséquent, il existe des groupes fonctionnels de neurones qui sont caractérisés soit, par des réponses à toute une large gamme de fréquence ou simplement à un sens de modulation de fréquence ou d'amplitude, soit, par des réponses à des paramètres très précis comme une fréquence particulière ou une certaine pente de modulation de fréquence ou d'amplitude (Woolley et al., 2009). On retrouve ces groupes fonctionnels du thalamus auditif dans le diencephale au champ L dans le télencéphale (Amin et al., 2010).

1.3.3.2 Au niveau d'une aire auditive secondaire, le NCM.

Dans leur étude de 1985, Müller et Leppelsack mirent en évidence des différences entre le cortex auditif primaire (champ L) et les aires auditives cérébrales qui l'entourent et vers lesquelles il envoie des projections (NCM et CMM) notamment en montrant qu'il y avait un plus

grand nombre de cellules ne répondant qu'à des signaux complexes au sein du NCM (19% des cellules enregistrées dans cette aire), que dans le champ L (5% des cellules enregistrées dans cette aire). Ils montrèrent également, que dans l'ensemble de ces aires auditives, les cellules qui ne répondaient qu'à des sons complexes pouvaient être divisées, au moins, en deux sous-groupes : celles qui étaient sensibles aux modulations d'amplitude et celles qui étaient sensibles à la structure en fréquence des stimuli.

D'autres études ont, par la suite, montré que par rapport au champ L, une plus grande proportion de neurones au sein des aires auditives secondaires, et notamment du NCM, réalisent une intégration non-linéaire des signaux. Autrement dit l'activité évoquée par la présentation d'un signal complexe ne peut pas être prédite en se basant simplement sur les propriétés auditives définies à partir du STRF (Palmer, 1995; Sen et al., 2001) et la réponse évoquée par une vocalisation donnée ne résulte pas de la somme des réponses aux différents éléments acoustiques qui constituent cette vocalisation (Ribeiro et al., 1998). Par conséquent, la proportion de neurones réalisant une intégration non-linéaire des signaux augmente au fur et à mesure que l'on progresse dans l'organisation hiérarchique des aires auditives et cette intégration non-linéaire peut être vue comme un moyen de générer une réponse unique à un signal complexe.

À partir des années 90, des études se sont intéressées aux propriétés des neurones de ces aires auditives supérieures à travers une autre approche, celle consistant à évaluer le marquage de protéines issues de l'activation de gènes précoces. Ces études ont apporté les premiers éléments sur la façon dont les vocalisations sont intégrées dans cette région auditive. Les gènes précoces sont une catégorie de gènes qui sont activés très rapidement et de manière transitoire en réponse à l'excitation de la cellule. Chez l'oiseau, la majorité des études sont réalisées par le biais du marquage de la protéine zenk résultante de l'activation du gène précoce *Zenk* (acronyme des gènes précoces *Zif-268*, *Egr-1*, *NGFI-A*, et *Krox-24*) que l'on trouve chez les mammifères (Mello et al., 1992; Long and Salbaum, 1998). Ainsi, il a été montré qu'au sein du NCM, l'expression de *Zenk* est plus forte après la présentation de chants conspécifiques qu'après celle de chants hétérospécifiques, et que la présentation de sons purs entraînait une faible, voire aucune, expression de *Zenk* dans cette région (Mello et al., 1992, 2004; Mello, 2004). Cette expression en faveur des vocalisations de l'espèce dans le NCM est également retrouvée avec le gène précoce *Fos* (Bailey et al., 2002).

Des études électrophysiologiques au sein du NCM ont été menées. Elles ont également montré que les neurones de cette région auditive répondent à une grande variété de signaux complexes comme des chants ou des cris, mais qu'ils présentent une préférence pour les vocalisations de l'espèce par rapport à celles d'individus d'une autre espèce ou à des sons purs (Chew et al., 1996a; Stripling et al., 1997, 2001). En 2007, Terleph et al., ont montré que les

propriétés auditives des neurones du NCM diffèrent selon l'espèce d'oiseau étudiée. En effet, les neurones du NCM des diamants mandarins répondent à de larges bandes de fréquence et leurs réponses sont soutenues dans le temps, leur permettant ainsi de répondre de manière optimale aux syllabes des chants de l'espèce qui sont composées d'harmoniques fortement modulées en fréquence et qui durent plusieurs centaines de millisecondes. Alors que chez les canaris, les neurones répondent quant à eux à des gammes de fréquence beaucoup plus réduites et de manière plus ponctuelle tout à fait adaptée aux courts sifflements dont sont composés leurs chants. L'ensemble des résultats génomiques et électrophysiologiques suggèrent donc que le NCM est spécialisé dans le traitement des vocalisations et plus particulièrement des signaux de l'espèce.

Par ailleurs, ce qu'ont révélé les études portant sur le traitement auditif réalisé au sein du NCM, c'est une habituation des réponses lors de la présentation successive d'un même signal. La présentation répétée du même chant, pendant plusieurs heures le même jour ou bien une heure sur plusieurs jours, entraîne une forte diminution de l'expression du gène *Zenk* (Mello and Nottebohm, 1995). Cette baisse d'expression dure dans le temps car même 24h après la diffusion répétée d'un chant, une nouvelle présentation de celui-ci ne modifiera pas le taux d'expression de *Zenk*. Cette diminution est appelée habituation car d'une part elle n'est pas due à un phénomène d'épuisement des neurones mais bien à la présentation répétée d'un même stimulus. En effet, la présentation d'un nouveau stimulus provoque de nouveau une forte expression de *Zenk* (Mello and Nottebohm, 1995) et la présentation du même chant dans un contexte différent, comme un nouvel emplacement de l'enceinte ou à une intensité différente (dB), rétablit de nouveau une forte expression de *Zenk* dans le NCM (Kruse et al., 2004). Enfin, il apparaît que cette habituation émerge au niveau du NCM car au niveau champ L (L2a,b), aucune expression du gène *Zenk* n'est observée, en dépit du fait que les neurones répondent à la diffusion de vocalisations (Mello and Clayton, 1994; Terleph et al., 2006). Les études électrophysiologiques ont également montré que la présentation répétée du même signal provoque une diminution du taux de décharge des neurones du NCM (Chew et al., 1995; Stripling et al., 1997; Terleph et al., 2006).

L'étude de ce phénomène d'habituation des réponses neuronales a conduit à montrer qu'il varie en fonction du type de signal acoustique. En effet, l'habituation est plus rapide pour les chants d'individus d'autres espèces que pour les chants d'individus de la même espèce. De plus, l'habituation observée lors de la présentation de chants hétérospécifiques ne dure que quelques heures alors que l'habituation pour les chants conspécifiques peut durer jusqu'à 48h (Chew et al., 1995), c'est-à-dire qu'il faut attendre près de deux jours pour que la présentation du chant « habitué » provoque une réponse des neurones du NCM dont l'amplitude est comparable à celle de la réponse initiale. Le taux d'habituation varie aussi selon la signification

du signal pour l'individu : il est moins important pour le chant du tuteur que pour un chant d'un individu inconnu (Phan et al., 2006). Enfin, aucune habituation des réponses n'a été observée lors de la présentation répétée de sons purs ou de bruits blancs (Stripling et al., 1997). Ces résultats suggèrent que les neurones du NCM sont capables de discriminer entre différents signaux et notamment entre les vocalisations conspécifiques et hétérospécifiques.

Bien qu'aucune donnée ne relie directement la diminution de l'expression du gène *Zenk* à la baisse des réponses neuronales, il est intéressant de remarquer que les stimuli qui ne provoquent pas, ou très peu, d'expression du gène *Zenk*, comme les sons purs ou le bruit blanc, ne provoquent pas non plus de diminution du taux de décharge des neurones du NCM. De surcroît, si l'on bloque la synthèse de protéines ou d'ARN, qui découle directement de l'expression génomique, on diminue la durée, voire on interrompt, le phénomène d'habituation ce qui a pour effet de rétablir des réponses électrophysiologiques similaires à la première présentation du signal (Chew et al., 1995). Dans la littérature, le gène *Zenk* est décrit comme pouvant être associé à des phénomènes de plasticité synaptique et de potentialisation à long-terme dans l'hippocampe de rongeurs et peut donc jouer un rôle dans les mécanismes impliqués dans la mémorisation des informations (Cole et al., 1989; Wallace et al., 1995; pour revues, Clayton, 1997; Mello, 2004). Des études réalisées chez les oiseaux chanteurs apportent des arguments en faveur de cette hypothèse. En effet, il a été montré qu'au cours du développement, on passait d'une expression constitutive du gène *Zenk* dans les neurones du NCM, à une expression inductible par la présentation de signaux, et que cette transition s'opérait au début de la phase sensori-motrice pendant laquelle le jeune va mémoriser le chant du tuteur et apprendre à produire par imitation son propre chant (Stripling et al., 2001). En outre, une étude a montré qu'exposer, de nouveau, des mâles adultes au chant de leur tuteur entraînait une forte expression de *Zenk*, et que cette expression était corrélée avec le nombre de notes apprises du chant du tuteur, c'est-à-dire qu'au plus le mâle diamant mandarin avait intégré les notes du chant du tuteur dans son propre chant, au plus l'expression de *Zenk* est forte au sein du NCM (Bolhuis et al., 2000, 2001). Par la suite, une étude a montré que la lésion bilatérale du NCM par un neurotoxique altère la reconnaissance du chant du tuteur chez l'adulte (Gobes and Bolhuis, 2007). Ces derniers résultats suggèrent, d'une part, un lien entre l'expression du gène *Zenk* et la mémorisation, et d'autre part, que le NCM fait partie du substrat neuronal de la mémoire du chant du tuteur.

En résumé, l'ensemble de ces études a mis en évidence une spécialisation du NCM pour les vocalisations de l'espèce ainsi que l'existence de phénomènes de plasticité (habituation) au sein de cette région auditive. Le NCM apparaît également comme une aire auditive pouvant être impliquée dans le processus de mémorisation des informations auditives.

La question qui se pose maintenant est de savoir si le NCM pourrait contribuer à la discrimination des individus, autre que le tuteur, sur la base de leurs vocalisations (Pinaud and Terleph, 2008; Hahnloser and Kotowicz, 2010). Quelques études suggèrent cela. Chez les femelles diamants mandarins, l'expression du gène *Zenk* est plus forte pour le chant d'un individu inconnu que pour celui du mâle partenaire dans le NCM (Woolley and Doupe, 2008). De plus, chez l'étourneau, les réponses des neurones du NCM diffèrent selon l'information portée par différentes catégories de syllabes contenues dans les chants : elles sont plus fortes pour les syllabes hautement individualisées, suivies de celles pour des syllabes individuelles mais pouvant être partagées, puis enfin par les réponses pour des syllabes communes à tous les mâles étourneaux et servant à reconnaître l'espèce et la population (George et al., 2008). Ainsi, un codage des caractéristiques des vocalisations des individus pourrait avoir lieu au sein du NCM, rendant possible la reconnaissance des signaux de communications des congénères.

1.3.4 Le diamant mandarin, un oiseau social

Dans les études portant sur la discrimination des signaux acoustiques et leur représentation au sein des aires auditives, le diamant mandarin, *Taeniopygia guttata*, est certainement parmi toutes les espèces d'oiseaux chanteurs la plus utilisée en laboratoire. Dans son milieu naturel, les diamants mandarins vivent en groupes ou colonies de plusieurs dizaines d'individus et se montrent très sociaux, notamment, en maintenant constante la communication avec les autres individus du groupe à travers leurs vocalisations (Zann, 1996).

Comme de nombreuses espèces d'oiseaux chanteurs, les diamants mandarins produisent deux types de vocalisations : les chants et les cris. Mais seuls les mâles chantent et le chant qu'ils produisent (chaque mâle n'en a qu'un seul) consiste en une série stéréotypée de signaux complexes (fig. 4). En revanche, les mâles et les femelles émettent en abondance de courts cris de contact appelés « têt » pour maintenir constante la communication avec les autres individus du groupe lorsque les individus sont regroupés ou à l'intérieur du nid (Zann, 1996). Mais lorsqu'ils sont éloignés ou hors de portée visuelle de congénères ils émettent alors des cris plus longs qui sont appelés cris de longue distance qui diffèrent dans leur structure acoustique entre les mâles et les femelles (Zann, 1984, 1996; Marler, 2004)(fig. 4).

1.3.4.1 Reconnaissance individuelle à partir des cris

Chez les mâles, les cris de distances, comme le chant, sont appris dès le plus jeune âge par imitation d'un tuteur, s'agissant la plupart du temps de leur père (Zann, 1984, 1996; Simpson and Vicario, 1990; Slater and Jones, 1995; Bolhuis and Gahr, 2006; Gobes et al., 2009).

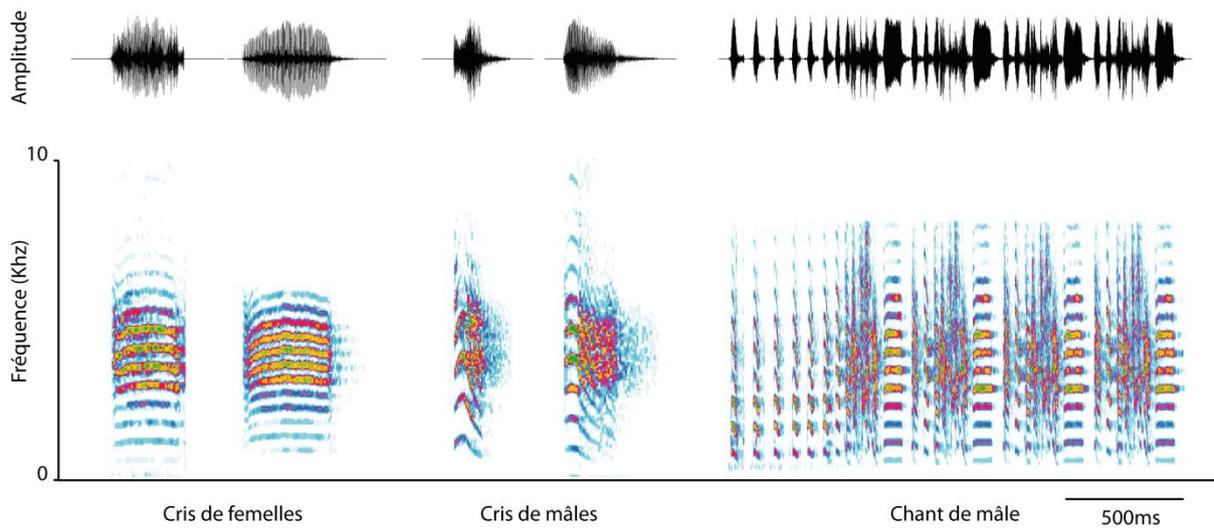


Figure 4 : Représentation des cris de distance de deux femelles et de deux cris de mâles ainsi que du chant d'un mâle diamant mandarin. La partie supérieure correspond à l'enveloppe des signaux, et la partie inférieure au spectrogramme (fréquence en fonction du temps avec la répartition de l'énergie qui représentée par un gradient de couleur). Les cris de distance des femelles sont plus longs et beaucoup moins modulés en fréquence que ceux des mâles. De plus, le cri de distance de femelle possède généralement une fréquence fondamentale autour de 400-500 Hz, bien plus basse que celles des vocalisations mâles, comprise entre 600 et 1000Hz.

Dans son livre sur le diamant mandarin, Richard Zann (1996) décrit que chaque diamant mandarin reproduit son cri de longue distance avec une grande fiabilité, et que la structure acoustique des cris de mâles diffère d'un individu à un autre, au point que l'analyse de plusieurs caractéristiques morphologiques des cris permet de classer très fidèlement les sonagrammes correspondant à différents individus. À l'inverse, chez les femelles, aucun paramètre de leur cri n'est appris par imitation (Forstmeier et al., 2009) et bien que les spectrogrammes de leurs cris semblent similaires (fig. 4), l'analyse de certains paramètres acoustiques permet leur distinction (Vignal et al., 2004). Chez les mâles, l'apprentissage serait la cause de la forte variabilité dans les cris entre les individus (Forstmeier et al., 2009). De plus, certains paramètres acoustiques comme la gamme de fréquence ou le timbre, sont directement corrélés à la morphologie de du mâle ou de la femelle. Ainsi, la structure acoustique du cri de distance est unique pour chaque diamant mandarin (Zann, 1984, 1996; Vignal et al., 2004, 2008).

La combinaison de paramètres acoustiques permet donc aux cris de longue distance de transmettre un certain nombre d'informations, comme, l'espèce, le sexe et l'identité de l'individu émetteur. D'un point de vue comportemental, ces informations pourraient être exploitées (Zann, 1984; Marler, 2004). En effet, les diamants mandarins, mâles et femelles, sont capables de discriminer entre les cris de leur propre espèce et ceux d'une autre espèce (Okanoya and Dooling, 1991; Dooling et al., 1992), entre les cris de distance des mâles et ceux des femelles (Vicario et al., 2001; Gobes and Bolhuis, 2007). Ils sont également capables de reconnaître le cri de longue distance de leur partenaire sexuel (Miller, 1979; Vignal et al., 2004, 2008).

À partir de là, comme d'un point de vue acoustique les cris de distance se situent entre les sons purs (qui sont des éléments acoustiques simples) et les chants (qui correspondent quant à eux une suite organisée de signaux complexes) et comme d'un point de vue comportemental, ils permettent de caractériser l'individu et de l'identifier s'il s'agit du partenaire sexuel, les cris de distance représentent un bon modèle de vocalisation pour étudier a) le substrat neuronal qui sous-tend la discrimination entre les individus et la reconnaissance du partenaire sexuel et b) comment sont encodés les signaux acoustiques familiers par rapport à ceux qui sont inconnus.

1.3.4.2 Rôle du contexte social

Les diamants mandarins sont des individus sociaux et un certain nombre d'études ont mis en évidence que le contexte social influait non seulement sur leur comportement mais aussi sur l'activité cérébrale au niveau de certaines régions.

Les mâles produisent deux types de chant différents, appelés « dirigés » ou « non-dirigés », selon le contexte social durant lequel ils l'émettent (Dunn and Zann, 1996, 1997). Le chant dirigé est émis par le mâle uniquement envers une femelle lorsque celle-ci est à ses côtés,

le chant non-dirigé est produit lorsque le mâle est seul, ou entouré d'autres mâles. Les deux chants diffèrent par le nombre de notes introductives ainsi que par le nombre de motifs répétés (Jarvis et al., 1998). Mais, chez les mâles, le contexte social n'a pas seulement un effet sur la production du chant, la reconnaissance de la femelle partenaire par le mâle sur la base de son cri de distance dépend également du contexte dans lequel ce cri est présenté.

Le mâle ne montre une discrimination entre le cri de sa femelle partenaire et celle d'une femelle familière que s'il est placé en présence d'un autre couple de diamants mandarins, lors de la diffusion des cris. En présence de deux mâles ou d'un mâle et d'une femelle qui ne sont pas en couple, une telle discrimination ne s'observe pas (Perez et al., 2012). En revanche, les femelles montrent une capacité à reconnaître leur partenaire sexuel sur la base de leur cri de distance et ce qu'elles soient isolées (Miller, 1979) ou mises en contexte social (Vignal et al., 2008).

Chez les mâles, la reconnaissance du cri de la femelle partenaire dépend donc du contexte social. Avant cette mise en évidence, deux hypothèses étaient proposées pour expliquer l'absence de discrimination comportementale chez les mâles sur la base des cris de femelles : la première suggérait qu'au vu de la plus simple structure acoustique des cris de distance femelle, ces vocalisations offraient moins de paramètres acoustiques individuels distinctifs pouvant servir aux mâles pour les discriminer (Sturdy, 2004). La seconde se basait sur le fait que, dans leur environnement naturel, les mâles étaient capables de reconnaître leur femelle sur la base de leur cri de distance et que, donc les expériences en laboratoire entraînaient la perte de cette faculté, probablement en modifiant le comportement naturel des mâles du fait de leur isolation durant les tests (Vignal et al., 2004).

Des études génomiques et électrophysiologiques montrent que le contexte social influe aussi sur l'activité cérébrale dans certaines régions du cerveau (Jarvis et al., 1998; Hessler and Doupe, 1999). En ce qui concerne le NCM, l'expression du gène *Zenk* est plus forte suite à la diffusion du cri de distance d'une femelle lorsqu'il est entouré deux autres mâles que lorsqu'il est tout seul (Vignal et al., 2005).

Ainsi, au vu de l'influence du contexte social sur la discrimination entre les cris de différents individus et sur l'activité des neurones du NCM, une question qui se pose est de savoir si l'activité des neurones du NCM évoquée par les cris de différents individus diffère en fonction du contexte social d'écoute.

1.4 Objectif des études

Le projet de cette thèse a été d'étudier comment le codage neuronal des vocalisations peut contribuer à la détection et à leur reconnaissance. La littérature sur la plasticité neuronale

montre que la pertinence d'un signal acoustique pour un individu peut changer la représentation de ce signal.

Notre hypothèse de travail a été l'idée selon laquelle, le NCM pourrait être une région impliquée dans la mémorisation et la reconnaissance des signaux de communication. Dans ce cadre, nous avons étudié, chez des mâles et des femelles diamants mandarins, les réponses des neurones du NCM obtenues lors de la présentation de cris de distance produits par différents congénères.

Mon projet de recherche s'est composé de 3 grands axes.

1er axe : Étude des réponses des neurones du NCM à la présentation de cris de distance qui diffèrent par leur degré de familiarité.

Dans un premier temps nous avons tiré parti du lien de monogamie qui unit les deux partenaires formant un couple et de la capacité à reconnaître le partenaire sexuel sur la base de son cri de distance, en cherchant à déterminer si les neurones du NCM pouvaient montrer une discrimination dans leurs réponses auditives entre le cri de leur partenaire sexuel et celui d'individus (du même sexe que le partenaire) connus ou inconnus et si ces réponses reflétaient le degré de familiarité de ces vocalisations. Les réponses neuronales à des cris d'un individu familier ou inconnu du même sexe que l'oiseau ont également été recueillies.

Dans ce but, nous avons réalisé des enregistrements multi-unitaires et unitaires chez des diamants mandarins vigiles ou anesthésiés, lors de la diffusion de cris de distance.

Afin de savoir si la mémorisation du cri du partenaire sexuel s'accompagne d'un changement dans la représentation de ce signal acoustique au niveau du NCM, nous avons cherché à savoir si la présentation du cri du partenaire sexuel s'accompagnait d'une activation neuronale d'une plus grande amplitude que celles induites par la présentation d'un autre type de cri à la fois. Pour cela, nous avons quantifié non seulement l'amplitude des réponses de la population générale des neurones mais aussi le nombre de neurones qui montraient une telle différence.

2ème axe : Impact du contexte social sur les réponses des neurones du NCM à la diffusion de cris de distance, chez les mâles.

Comme une étude comportementale montre que la discrimination entre le cri de la femelle partenaire et celui d'une femelle connue dépend du contexte social dans lequel se trouve le mâle, nous avons voulu déterminer si, de même, le type de contexte social influait sur le traitement auditif réalisé au sein du NCM. Dans ce but, nous avons recueilli, chez des mâles vivant en couple, les réponses des neurones du NCM lors de la diffusion du cri de la femelle partenaire, d'une femelle familière et d'une femelle inconnue dans plusieurs contextes sociaux

d'écoute: a) seul ; b) en présence de sa femelle partenaire ; c) en présence d'un couple d'individus familiers et enfin d) en présence de deux mâles familiers.

3ème axe : Étude des caractéristiques acoustiques des cris de distance auxquelles les neurones du NCM sont sensibles.

Après avoir mis en évidence que les neurones du NCM présentaient des réponses lors de la diffusion de cris de distance, la question qui s'est posée a été de savoir comment, les cris étaient représentés, d'un point de vue acoustique, au niveau du NCM. En nous basant, en grande partie, sur une étude comportementale ayant déterminé quelles étaient les caractéristiques acoustiques des cris de mâles et des cris de femelles qui contribuaient à la reconnaissance du cri, nous avons cherché à savoir si les réponses des neurones du NCM à la présentation des cris de mâles et de femelles reposaient sur ces caractéristiques acoustiques. Dans cette étude, nous avons modifié une à une ces caractéristiques acoustiques du cri du partenaire sexuel et du propre cri de l'oiseau et nous avons comparé les réponses lors de la présentation de ces cris modifiés à celles obtenues lors de la présentation du cri original.

Chapitre 2.

Techniques et méthodes générales

2.1 Sujets

Un total de 19 mâles et 19 femelles diamants mandarins (*Taeniopygia guttata*) ont été utilisés pour cette thèse. Les oiseaux ont été élevés à l'animalerie du laboratoire CNPS (Université Paris Sud 11) avec un cycle photopériodique 12h-12h et une température ambiante de 22 à 25°C. Chaque individu a un accès *ad libitum* à la nourriture et à l'eau de boisson. Tous les individus avaient atteint l'âge adulte (120 jours ou plus) avant d'être sélectionnés pour les expériences.

2.2 Groupes expérimentaux

Tout au long de nos expériences, deux groupes expérimentaux ont été formés : le groupe des animaux vivant en couple et celui des animaux contrôles.

Afin de constituer des couples, des mâles et des femelles ont été placés par paire dans des cages individuelles pourvues d'un nid. Nous avons considéré que deux oiseaux formaient un couple si, et seulement si, ils avaient donné naissance à au moins une portée d'oisillons. Une fois cette condition remplie, au moins 3 jours avant le début des expériences, nous avons placé chaque couple dans une nouvelle cage proche de celle dans laquelle vivait un autre couple de diamants mandarins, permettant ainsi les contacts visuels et acoustiques entre les individus. De cette manière, chaque couple d'oiseau a été familiarisé avec les vocalisations d'une autre couple de diamants mandarins, que nous appellerons par la suite individus mâle et femelle familiers.

Chez le diamant mandarin, il a été montré que les individus pouvaient mémoriser le chant qui avait été entendu pendant une journée : ils répondaient comportementalement plus à ce chant qu'à un chant qu'ils n'avaient jamais entendu (Stripling et al., 2003). Sur cette base, nous avons supposé qu'en plusieurs jours les cris de distance d'un mâle et d'une femelle pouvaient eux aussi être mémorisés et donc devenir « familiers ». Dans nos expériences, nous avons utilisé au total 2 couples d'individus familiers, mais chacun des couples de diamants mandarins, chez lesquels les enregistrements ont été réalisés, n'a été familiarisé qu'avec un seul couple d'individus familiers.

Le groupe contrôle a été composé de mâles et de femelles adultes placés ensemble dans une même volière mais dans une seconde pièce de l'animalerie, bien à l'écart des oiseaux en couple.

2.3 Stimuli auditifs

Aux oiseaux vivant en couple, il a été présenté (*i*) des cris de distance d'individus connus, comprenant celui du partenaire sexuel ainsi que ceux du mâle et de la femelle familiers, et (*ii*)

des cris de distance d'individus inconnus, c'est-à-dire ceux de congénères qui n'avaient jamais été entendus auparavant.

Aux individus contrôles, nous avons diffusé les cris de distance qui avaient été présentés aux individus vivant en couple, mais pour ces oiseaux toutes ces vocalisations n'avaient jamais été entendues auparavant et étaient donc inconnues.

2.3.1 Enregistrements des vocalisations

Les cris de distance des diamants mandarin sont des vocalisations qui sont émises lorsqu'un individu se trouve hors de la vue de son partenaire sexuel ou de ses congénères.

Afin d'enregistrer les cris de distance des diamants mandarins, chaque individu a été placé seul dans une cage individuelle et dans une pièce isolée. Pour enregistrer les cris nous avons utilisé un microphone Sennheiser MD46 de bande passante 40-18 000Hz, positionné à 10cm environ de la cage et relié à un magnétophone numérique Marrantz PMD 670 (taux d'échantillonnage de 22 055Hz avec une taille d'échantillonnage de 16bits). Pour chaque couple, parmi toutes les vocalisations enregistrées nous avons pris soin de sélectionner un cri sans bruit en arrière-plan (bruits de cage, vol ou autres).

2.3.2 Présentations des vocalisations

Durant nos expériences les vocalisations ont été diffusées via une enceinte sans fil et le volume a été systématiquement réglé à entre 65 et 70dB à l'aide d'un sonomètre Voltcraft SL-100. Les cris de distance ont été présentés successivement 50 fois, par blocs de 10 cris successifs séparés par un intervalle de silence de 5 secondes (fig. 5). Au sein de chaque bloc, les cris ont été séparés par 1,5 seconde de silence. Un silence de 30 secondes au moins séparait la présentation d'un cri de celle d'un autre cri.

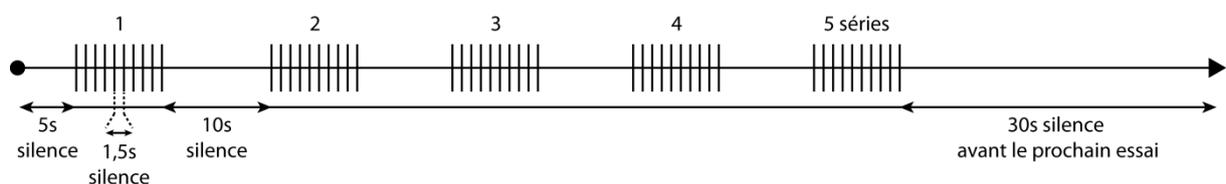


Figure 5 : Schéma représentant la manière dont ont été diffusées les 50 présentations de chaque cri de distance utilisés dans notre étude.

2.4 Enregistrements électrophysiologiques

Afin de savoir si les propriétés auditives des neurones du NCM ne différaient pas selon l'état d'éveil dans lequel se trouvait l'oiseau, les enregistrements électrophysiologiques ont été réalisés de manière chronique chez des mâles et femelles vigiles et libres de leurs mouvements grâce à un système de télémétrie ou de manière aiguë chez des mâles et des femelles sous anesthésie.

Le système de télémétrie ne nous permettait d'enregistrer l'activité neuronale que d'une seule électrode implantée à demeure. Les électrodes utilisées étant des électrodes de faible impédance, elles enregistraient l'activité multi-unitaire à partir de laquelle nous avons extrait ou non l'activité d'un ou deux neurones.

Lors des enregistrements sous anesthésie, nous avons utilisé des électrodes de forte impédance qui nous ont permis d'enregistrer l'activité qui nous apparaissait être celle d'un seul neurone et de recueillir successivement l'activité de plusieurs neurones chez un même oiseau.

2.4.1 Enregistrements chroniques sur animal vigile

Un système de télémétrie a été mis au point au sein du laboratoire pour permettre de transmettre par ondes radio l'activité électrique recueillie par une électrode implantée dans le NCM.

Une électrode de nichrome de faible impédance, est reliée à un connecteur qui est lui-même maintenu sur le sommet du crâne de l'individu grâce à du ciment dentaire (Dentalon plus, Heraeus Kulzer GmbH, Germany). L'ensemble est connecté à un émetteur FM (fig. 2B, article, page 43), très léger, environ 2,2 grammes avec la batterie, et de petite taille (2x2x0,5cm), placé sur le dos de l'animal lors des expériences. À l'intérieur de la chambre d'isolation acoustique où les enregistrements de l'activité neuronale ont lieu, une antenne recueille l'activité et la transmet à un système d'acquisition 1401power de Cambridge Electronic Design (CED, Cambridge, United-Kingdom). L'ensemble des détails techniques sont présentés dans la partie « Méthodes » de l'article publié dans *European Journal of Neuroscience* page 42).

Cette technique a l'avantage de permettre l'enregistrement chez un oiseau vigile qui n'est pas en contention. Cependant, cette technique a certaines limites. Tout d'abord une fois que l'électrode est placée, on ne peut plus ajuster la position de l'électrode et donc on obtient qu'un seul site d'enregistrement par oiseau. C'est la raison pour laquelle le nombre d'enregistrements effectués chez les animaux vigiles durant ma thèse a été limité. Des oiseaux ont été implantés avec une deuxième électrode, mais le système de télémétrie ne permettait de recueillir que l'activité provenant d'une seule électrode à la fois. De plus, pour pallier au risque de ne pas capter de signal d'activité après l'opération chirurgicale, nous avons utilisé des électrodes de

faible impédance ce qui permet d'accroître la probabilité d'enregistrer l'activité de plusieurs neurones autour de l'électrode une fois positionnée et donc de réaliser des enregistrements multi-unitaires de neurones. En contrepartie il est plus difficile de différencier l'activité d'un neurone d'un autre dans ce type d'enregistrement, même si, pour une bonne partie d'entre eux, nous avons obtenu une bonne discrimination des neurones avec le logiciel Spike2 (voir analyse des données). Une autre limite de cette méthode est l'enregistrement d'artéfacts de mouvements lorsque l'animal bouge trop ce qui ne nous permettait pas d'analyser l'activité recueillie.

2.4.2 Enregistrements aigus sous anesthésie

Sous anesthésie, il a été possible de réaliser directement des enregistrements unitaires en approchant l'électrode de forte impédance (18M Ω , FHC, USA) suffisamment près d'un neurone donné pour faire en sorte que son activité ressorte par rapport au bruit de fond. Un intérêt de cette technique est la possibilité de multiplier les sites d'enregistrements et donc d'avoir une vision des réponses sur un grand nombre de neurones au sein de la population. En effet, on peut compter en moyenne trois sites d'enregistrement de coordonnées distinctes pour chaque animal avec pour chacun des sites, quatre à cinq profondeurs successives d'enregistrement expliquant ainsi le plus grand nombre de neurones enregistrés chez les animaux anesthésiés par rapport aux animaux vigiles.

2.4.2.1 Chirurgie

Les diamants mandarins ont été anesthésiés par voie gazeuse avec un mélange d'isoflurane, de 1 à 2,5g/l d'oxygène à un débit : 0,3l/min. Ils sont ensuite installés dans un appareil stéréotaxique avec la tête fixée par des barres d'oreilles. La peau du crâne est incisée longitudinalement et la surface de l'os est dégagée des différents tissus. Les deux fines couches d'os sont retirées avec la pointe d'un scalpel. Après incision de la dure-mère, l'électrode est descendue dans le NCM.

Lors de nos enregistrements, nous avons utilisé l'atlas stéréotaxique de Nixdorf-Bergweiler & Bischof, (2007) et nous avons choisi les coordonnées d'enregistrement utilisées dans Stripling et al, 1997.

2.5 Analyse des données

Les données électrophysiologiques ont été traitées avec le logiciel Spike2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). Dans un premier temps, pour chaque enregistrement, surtout pour ceux où l'animal est vigile, il a fallu supprimer les artefacts ainsi que les parties trop fortement bruitées. En effet, comme mentionné précédemment, une des limites de

l'enregistrement chez l'animal vigile est que, lorsque celui-ci bouge trop, comme lorsqu'il se met à voler ou à sautiller plusieurs fois d'affilées pour se déplacer, cela génère des artefacts qui masquent l'activité des neurones. Lors des expériences de contexte social, nous avons placé un microphone afin d'enregistrer les échanges vocaux durant l'expérience dans le but de ne pas tenir compte, lors des analyses, des réponses des neurones à la diffusion d'un cri si une vocalisation d'un des oiseaux présents survenait au même instant. Afin de ne pas tenir compte, soit des artefacts, soit des réponses à un autre stimulus auditif, chaque partie suspecte des enregistrements a été supprimée.

L'apparition des potentiels d'action (PA) est décelée lorsque leur amplitude dépasse un seuil placé au-dessus du bruit de fond (activité multi-unitaire, AMU). Ensuite les différents PA sont regroupés en fonction de leur similarité : forme, amplitude, durée, puis une Analyse en Composante Principales ou une Analyse basée sur des mesures spécifiques, permettent de s'assurer de la bonne séparation des unités (Harris et al., 2000). Ainsi il a été possible d'identifier de 1 à 4 neurones distincts (unités) selon les enregistrements réalisés.

Enfin, pour les 50 répétitions d'un même type de stimulus nous avons tracé des histogrammes péri-stimulus de chaque unité précédemment trouvée. Les PA sont additionnés par intervalle de 10ms sur les 500ms précédant chaque présentation et les 500ms à partir du début de celles-ci, ce qui permet non seulement de visualiser le taux de décharge en fonction du temps d'un neurone donné avant et pendant les 50 présentations mais également d'observer la grande diversité en terme d'activité entre les neurones, que ce soit en spontané ou dans la manière de répondre à un signal. En se servant de ces représentations un tri dans les cellules enregistrées a été fait : les cellules ayant un taux d'activité très faible et ne montrant aucune réponse aux différentes vocalisations ont été retirées des analyses.

2.5.1 Mesure de la force des réponses

Comme cela a été décrit dans la littérature, nous observons une grande diversité entre les neurones dans les taux d'activité spontanée ainsi que dans les patterns de réponses (Stripling et al., 1997). Au vu de la diversité des activités spontanées observées sur l'ensemble des cellules nous avons cherché à normaliser les forces des réponses des cellules entre elles. Pour cela nous avons utilisé l'index décrit par Stripling (1997), donné par la formule suivante :

$$Index = \frac{(\overline{S}_{duri} - \overline{S}_{base})_i}{(\overline{S}_{duri} + \overline{S}_{base})_i}$$

S_{during} représente le taux d'activité moyen pendant la présentation du stimulus, $S_{baseline}$, le taux d'activité spontané sur les 500ms qui précèdent chaque répétition du stimulus. Pour chaque cellule, si la valeur donnée est positive cela correspond à une augmentation du taux de réponses. À l'inverse, si la valeur donnée est négative cela correspond à une diminution du taux de réponses et donc une inhibition des neurones. En outre, l'index de Stripling est borné entre les valeurs -1 et 1.

Toutefois, l'inconvénient de cet indice est d'être borné entre deux valeurs limites : -1 et 1. Aussi, à partir du point 3.2 du chapitre 3, nous avons exprimé les réponses des neurones aux cris de distance à l'aide du Z-Score, un indice plus largement utilisé (Theunissen and Doupe, 1998; Amin et al., 2007; Thompson and Gentner, 2010). Le Z-Score est calculé à partir de la différence entre le taux de d'activité lors de la présentation du stimulus et le taux d'activité spontanée de la cellule. Il est donné par la formule suivante :

$$Z\text{-Score} = \frac{\bar{S}_{FR} - B_{FR}}{\sigma_{S_{FR}-B_{FR}}}$$

Avec au numérateur, SFR est le taux moyen de décharge pendant le stimulus (*Stimulus Firing Rate*), BFR est le taux moyen de décharge spontané sur 500ms avant le stimulus (*Baseline Firing Rate*), et au dénominateur l'écart-type de la différence entre le taux d'activité pendant et avant le stimulus.

Il est important de noter qu'à partir du chapitre 3.3.2 nous avons utilisé le Z-Score pour estimer la force des réponses aux stimuli. Nous avons également calculé l'index selon Stripling et al., (1997). Comme les résultats obtenus sur la base du Z-Score et de l'index sont en accord, nous n'avons mentionné que les valeurs de Z-Score.

2.5.2 Sélectivité des cellules

Nous avons également utilisé la mesure psychophysique d' (Green and Swets, 1966; Theunissen and Doupe, 1998) afin d'estimer le degré de sélectivité des réponses des neurones pour un stimulus par rapport à un autre. Cet index de sélectivité entre deux stimuli prend en compte les réponses durant la présentation des stimuli mais aussi la variabilité de ces réponses sur les 50 présentations de chacun de ces stimuli. Cet index permet de savoir si une cellule se montre sélective entre deux vocalisations A et B et il est donné par la formule suivante :

$$d' = \frac{2(\bar{S}_A - \bar{S}_B)}{\sqrt{\sigma_A^2 + \sigma_B^2}}$$

Où, \bar{S} correspond à la réponse moyenne pour le stimulus A et B, et σ^2 à la variance de cette réponse. L'index d' est positif, si la cellule répond plus au stimulus A qu'au stimulus B. Inversement, l'index d' est négatif, si la cellule répond plus au stimulus B qu'au stimulus A. Les neurones ont été classés comme sélectifs, lorsque le d' dépassait une valeur seuil (supérieur à 1 ou inférieur à -1). Comme nous l'avons vérifié par un test statistique réalisé sur chaque neurone qui présentait un indice >1 ou <-1 , une telle valeur du d' est obtenue lorsque le neurone répond significativement plus à un stimulus qu'à l'autre ($p < 0,001$).

2.5.3 Statistiques

La normalité des populations de neurones enregistrés a d'abord été testée avec le test de Liliefors ($p < 0,05$). La majeure partie de nos tests sont des tests paramétriques, mais dans certains cas nous avons utilisé l'équivalent en tests non paramétriques. Pour comparer les forces des réponses aux différents cris de distance, nous avons utilisé un test de modèle linéaire général en spécifiant si besoin les facteurs à prendre en compte (groupe expérimental, sexe des individus ou des vocalisations présentées). Les différences dans les distributions des réponses ont été testées avec un test de χ^2 .

Chapitre 3.

**Réponses des neurones du
NCM à la présentation de
cris : effet de la
familiarisation**

3.1 Introduction

La vie en groupe social impose aux individus de reconnaître leurs différents congénères. Les signaux de communication permettent aux individus de les classer comme étant de la même espèce ou d'une autre espèce, familier ou inconnu, partenaire ou non partenaire, parents ou non (Theunissen and Shaevitz, 2006). Chez le diamant mandarin, les cris de longue distance sont des signaux qui peuvent transmettre des informations sur le sexe et l'identité de l'oiseau (Vicario et al., 2001; Vignal et al., 2004). Comme quelques études le suggèrent, le NCM semble particulièrement impliqué dans la reconnaissance des vocalisations d'individus familiers (Woolley and Doupe, 2008). Dans cette partie, nous avons voulu déterminer si la mémorisation du cri de distance d'individus devenus familiers s'accompagne des changements dans la représentation de ce signal dans une aire auditive supérieure, le NCM.

Pour cela les réponses des neurones du NCM ont été enregistrées lors de la présentation du cri de longue distance du partenaire sexuel, d'individus familiers (mâles et femelles) et d'individus inconnus (mâles et femelles également).

Tout d'abord, les résultats obtenus chez les femelles sont présentés. Nous avons comparé les réponses des neurones du NCM aux cris de mâles dans un premier temps, puis dans un second temps aux cris de femelles, pour enfin comparer les réponses des neurones aux cris de mâles et à celles obtenues aux cris de femelles.

Ensuite, ce sont résultats obtenus chez les mâles qui seront présentés, en commençant par les réponses des neurones aux cris de femelles, puis aux cris de mâles, après quoi nous avons comparé les réponses neurones aux cris de femelles et de mâles.

Enfin, dans une dernière partie, comme ce sont les mêmes cris d'individus (mâles et femelles) familiers et inconnus qui ont été présentés aux mâles et aux femelles, nous avons pu comparer les réponses recueillies chez les femelles à celles recueillies chez les mâles dans le but de déterminer s'il existe une différence dans le traitement des cris de distance au niveau du NCM entre les deux sexes.

3.2 Techniques et méthodes

Sujets. Dans cette partie, nous avons réalisé les expériences sur des individus mâles et femelles vivant en couple (13 femelles et 14 mâles) ainsi que sur des individus contrôles (5 femelles et 4 mâles).

Stimuli. Pour les oiseaux vivant en couple nous avons présenté de manière aléatoire les cris connus, contenant le cri de distance du partenaire sexuel ainsi que le cri d'un mâle et d'une

femelle familiers, et les cris inconnus, qui correspondent aux cris de distance d'un mâle et d'une femelle inconnus, dont les vocalisations n'avaient jamais été entendues avant l'expérience.

Pour s'assurer que les réponses des neurones du NCM reflètent le degré de familiarité des vocalisations diffusées, nous avons également présenté l'ensemble des cris ci-dessus à des individus contrôles, mâles et femelles, qui ne les avaient jamais entendus auparavant. Aussi, pour tous les animaux contrôles, les cris de distance diffusés sont inconnus et ont donc la même signification. Les termes « femelle familière » ou « cri familial » seront néanmoins utilisés chez les animaux contrôles en référence à leur statut chez les individus en couple.

Enregistrements électrophysiologiques. Les enregistrements multi-unitaires de l'activité de neurones du NCM chez les oiseaux en couple nous ont permis dans un premier temps de déterminer comment répondent les neurones aux différentes vocalisations et s'ils répondent plus fortement aux vocalisations connues qu'aux vocalisations inconnues. Ensuite, grâce aux enregistrements unitaires de neurone réalisés sous anesthésie chez les oiseaux en couple et contrôles, nous avons exploré comment chacune des vocalisations est représentée au sein du NCM et déterminé si la mémorisation des signaux de communication entraîne un changement des réponses au sein du NCM

Analyse de données. Pour évaluer les forces des réponses des neurones aux différents signaux, nous avons calculé un indice normalisé, le Z-Score (voir chapitre 2, Techniques et méthodes générales). Nous avons également cherché à estimer la sélectivité des neurones pour un cri donné par rapport à un autre. Pour cela, nous avons calculé pour chaque cellule un index de sélectivité, noté *d'*.

De précédentes études rapportent que l'expression de gènes précoces ainsi que le taux de réponse diminuent en fonction de la répétition des signaux (Mello et al., 1992; Chew et al., 1995, 1996a; Stripling et al., 1997). Aussi, nous avons étudié l'effet de la répétition des stimuli sur l'amplitude des réponses des neurones du NCM. Pour cela nous avons comparé la fréquence d'émission des potentiels d'action lors de la diffusion du premier cri à celle obtenue lors des cinq dernières présentations (45 à 50). Nous avons calculé la moyenne du taux d'activité des neurones sur ces cinq cris. Cette comparaison nous a permis de savoir s'il y avait un effet de la répétition du cri pour chaque type de cri. Ensuite, afin de savoir si une différence dans l'amplitude des réponses entre deux cris n'était pas due à une différence dans le taux d'habituation et si l'effet de la répétition des cris ne différait pas selon le type de cri, nous avons recherché s'il y avait une interaction significative entre le type de cris et l'effet répétition.

3.3 Études des réponses des neurones du NCM à la présentation de cris : chez les femelles

3.3.1 Réponses aux cris de mâles

Article :

Social experience affects neuronal responses to male calls in adult female zebra finches.

Menardy F, Touiki K, Bouaziz J, Dutrieux G, Vignal C, Mathevon N and Del Negro C.

European Journal of Neuroscience, 2012

Les femelles diamants mandarins sont capables de reconnaître leur mâle partenaire sur la base du cri de distance qu'il émet (Vignal et al., 2008). Sur cette base, nous avons cherché à savoir si les réponses neuronales évoquées au sein du NCM lors de la diffusion de cris de mâles dépendaient du degré de familiarité du cri présenté (partenaire sexuel, mâle familial et enfin mâle inconnu).

3.3.1.1 Résultats

Nos résultats révèlent que chez les femelles vivant en couple, que ce soit chez les femelles vigiles ou chez les femelles anesthésiées, les neurones du NCM répondent plus fortement aux cris connus (partenaire sexuel et mâle familial) qu'aux cris inconnus. En revanche, chez les femelles contrôles, pour qui tous les cris diffusés n'avaient jamais été entendus auparavant, la force des réponses ne diffère pas entre les cris. Une analyse des réponses des neurones enregistrés chez les femelles anesthésiées montre, que a) ce sont les neurones qui répondent peu au cri du mâle inconnu qui présentent une préférence pour les cris connus par rapport au cri inconnu et b) que plus de neurones répondent faiblement au cri du mâle inconnu chez les femelles en couple que chez les femelles contrôles. Ainsi, il apparaît que le contraste dans la force des réponses aux différents cris est augmenté chez les femelles en couple par rapport aux femelles contrôles. Cet effet de contraste est également mis en évidence lorsque le degré de sélectivité des neurones est évalué. Un plus grand nombre de cellules se montrent sélectives ($d' > 1$) pour le cri du partenaire sexuel ou du mâle familial par rapport au cri inconnu chez les femelles en couple que chez les femelles contrôles. Enfin, des analyses prenant en compte l'information contenue dans l'organisation temporelle des décharges neuronales évoquées lors de la diffusion des cris montrent que la discrimination qui peut s'opérer sur la

base des motifs temporels d'activité est plus importante chez les femelles en couple que chez les femelles contrôles.

3.3.1.2 Conclusion

Nos résultats suggèrent donc que, chez les femelles diamants mandarins, le NCM est impliqué dans le codage des vocalisations ayant acquis une signification. Ils suggèrent également que la mémorisation des cris d'individus lors d'interactions sociales induit des changements dans la représentation des signaux acoustiques au sein du NCM.

Social experience affects neuronal responses to male calls in adult female zebra finches

F. Menardy, K. Touiki, G. Dutrieux, B. Bozon, C. Vignal, N. Mathevon and C. Del Negro
CNRS, UMR CNRS 8195, Paris-Sud University, Orsay, France

Keywords: auditory perception, awake freely moving, discrimination, response properties, songbirds

Abstract

Plasticity studies have consistently shown that behavioural relevance can change the neural representation of sounds in the auditory system, but what occurs in the context of natural acoustic communication where significance could be acquired through social interaction remains to be explored. The zebra finch, a highly social songbird species that forms lifelong pair bonds and uses a vocalization, the distance call, to identify its mate, offers an opportunity to address this issue. Here, we recorded spiking activity in females while presenting distance calls that differed in their degree of familiarity: calls produced by the mate, by a familiar male, or by an unfamiliar male. We focused on the caudomedial nidopallium (NCM), a secondary auditory forebrain region. Both the mate's call and the familiar call evoked responses that differed in magnitude from responses to the unfamiliar call. This distinction between responses was seen both in single unit recordings from anesthetized females and in multiunit recordings from awake freely moving females. In contrast, control females that had not heard them previously displayed responses of similar magnitudes to all three calls. In addition, more cells showed highly selective responses in mated than in control females, suggesting that experience-dependent plasticity in call-evoked responses resulted in enhanced discrimination of auditory stimuli. Our results as a whole demonstrate major changes in the representation of natural vocalizations in the NCM within the context of individual recognition. The functional properties of NCM neurons may thus change continuously to adapt to the social environment.

Introduction

The ability to recognize individuals is crucial for establishing stable social relationships and requires the formation of memories for individual-specific signals. Communication sounds are a predominant source of information in many species yet relatively little is known about the neural mechanisms underlying the ability to distinguish familiar from unfamiliar vocalizations.

Behavioural relevance can change the representation of sounds in the auditory system. In the primary auditory cortex in mammals, training typically causes a shift in the tuning of single neurons toward relevant sounds (reviewed in Weinberger, 2004). However, very few of these studies have examined learning- or experience-induced changes in the encoding of auditory stimuli using behaviourally relevant vocalizations (Schnupp *et al.*, 2006; Liu & Schreiner, 2007; Galindo-Leon *et al.*, 2009).

Songbirds provide an opportunity to examine experience-dependent changes in representation of natural communication sounds (Bolhuis & Gahr, 2006; Pinaud & Terleph, 2008). They produce vocalizations (songs and calls) with features that are species-specific or unique to the individual and they use these vocalizations to communicate in a social context. The caudomedial nidopallium (NCM) is a telencephalic auditory region that contributes to the processing of communication

signals and is selectively activated by complex sounds (Theunissen & Shaevitz, 2006). As revealed by immediate-early gene expression, neuronal spike rate or blood oxygenation levels, the activation of NCM neurons is greatest when birds are exposed to conspecific song, as compared to heterospecific song or artificial stimuli (Mello *et al.*, 1992; Chew *et al.*, 1996; Stripling *et al.*, 2001; Van Meir *et al.*, 2005; see also Ribeiro *et al.*, 1998). Repeated presentations of a conspecific vocalization (a song or a call) result in the habituation of gene expression or spiking responses in the NCM (Chew *et al.*, 1995; Mello *et al.*, 1995; Beckers & Gahr, 2010). As this habituation phenomenon is song- or call-specific (Chew *et al.*, 1995), the NCM is viewed as being involved in memory formation related to specific attributes of conspecific sound stimuli. Consistent with this hypothesis, the NCM may be part of the neural substrate of the memory trace of an individual-specific vocalization, the tutor's song (Bolhuis *et al.*, 2000, 2001). More generally, the activity of the NCM may be modulated by social experience (Terleph *et al.*, 2008; Woolley & Doupe, 2008).

The zebra finch (*Taeniopygia guttata*) is a social songbird species that maintains communication among group members using distance calls (Zann, 1996). This call type encodes both sex and individual identity and may support mate recognition (Zann, 1984; Simpson & Vicario, 1990; Vicario *et al.*, 2001; Vignal *et al.*, 2004), thus offering an opportunity to examine the auditory responses of NCM neurons to a natural vocalization within the context of individual recognition. To address this issue, we recorded spiking activity in the NCM of awake

Correspondence: Catherine Del Negro, as above.
E-mail: catherine.del-negro@u-psud.fr

Received 23 September 2011, revised 18 January 2012, accepted 20 January 2012

or anesthetized mated females while presenting calls that differed in their degree of familiarity, i.e. calls produced by the mate, by a familiar male or by an unfamiliar male.

Materials and methods

Subjects

The subjects were twenty-five adult female zebra finches (*Taeniopygia guttata*; at least 120 days of age) reared socially in the breeding colony at the Paris-Sud University. Birds were kept under a 12 : 12-h light : dark cycle, with food and water *ad libitum*, and an ambient temperature of 22–25 °C. About 4 months prior to the experiment, females ($n = 20$; 'mated' females) were paired with a male. Females were designated as mated according to a restrictive definition, i.e. only if they had raised at least one clutch of offspring at the time of the electrophysiological investigation. To familiarize mated females with the distance call of a conspecific male, each pair of birds (the female with its mate) was placed in a new cage that allowed close visual and auditory interactions with another pair of zebra finches at least 3 days prior to the electrophysiological investigation. Adult zebra finches are able to discriminate among songs of different individuals (Miller, 1979a,b; Clayton, 1988) and to form memories of specific songs after hearing them for only 3 hours in non-reinforced playback (Stripling *et al.*, 2003). Even though our study focused on another type of vocalization, we assumed that the behavioural conditions provided would allow the mated female to become familiar with the call of the neighbouring male. Two distinct pairs of birds were used as familiar birds, but each mated female in the present study was familiarized with only one of these pairs. In a different aviary in our colony, adult females ($n = 5$; control females) were kept in a group cage containing males and females. This group cage had been formed only 1 week before starting electrophysiological investigations. Although one could not exclude the possibility that these females had selected a mate, none of them had laid eggs and were hatching. None of these females had any prior exposure to call stimuli used in the present study.

Call recordings and auditory stimuli

A set of three distinct distance calls was presented while recording from each site within the NCM. It included the mate's call, the call of the male from the familiar pair (named the 'familiar' call) and the call of a male from an unfamiliar pair that had never been heard prior to the electrophysiological investigation. This call (named the 'unfamiliar' call) was produced by a paired male that had lived in another aviary prior to the beginning of the experiment. We used the distance calls of two unfamiliar males, but each female, whether awake or anesthetized, was exposed to the call of only one unfamiliar male during electrophysiological recording.

To record distance calls, the male was separated from its mate and housed individually in a small cage. Calls were recorded using a Sennheiser MD 46 microphone (Sennheiser Electronic, Wedemark, Germany) connected to a Marantz PMD670 recorder with a 22-kHz sampling rate, and were analysed off-line using Avisoft software (Avisoft SASLabPro, Berlin, Germany). From among the recorded calls of a given bird we selected a representative exemplar, on the basis of a visual inspection of call structure. Figure 1 shows both the oscillograms and the spectrograms of some calls used as auditory stimuli. A male distance call is a complex sound that consists of a harmonic series with a fundamental frequency of 650–1000 Hz

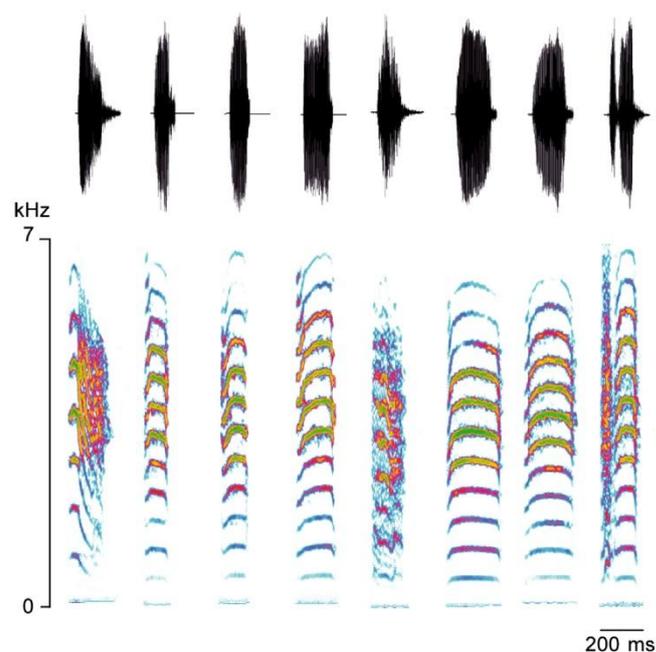


FIG. 1. Examples of distance calls of male zebra finches used as sound stimuli. Sound oscillograms (top) and spectrograms (bottom) of the distance calls.

(Vicario *et al.*, 2001; Vignal *et al.*, 2008; Vignal & Mathevon, 2011). Both the frequency and the amplitude are modulated. The duration of the calls used as auditory stimuli varied from 150 to 320 ms.

Electrophysiological recordings

We performed electrophysiological experiments both in freely moving females and in anesthetized females. In zebra finches, the auditory processing may be profoundly affected by behavioural state and response selectivity is not necessarily conserved between the awake and anesthetized conditions. Studies have indeed presented evidence from recordings in awake and anesthetized males that the selectivity of responses for the bird's own song in nucleus HVC (used as a proper name) of the avian song system is apparent only under anesthesia (Schmidt & Konishi, 1998; Cardin & Schmidt, 2003, 2004).

To record neural activity in awake birds, we used a lightweight radio telemetric device that made it possible to collect neural activity wirelessly, i.e. with a minimum of physical or behavioural constraint. The use of a telemetry system for recording neuronal activity in freely moving birds has been reported in previous experiments (Nieder & Klump, 1999; Schregardus *et al.*, 2006; Bee *et al.*, 2010). In the present study, we recorded multiunit activity in the NCM of mated females as a first step in determining whether social experience with the calls of individual males affected the auditory properties of NCM neurons. Then, to further assess how call stimuli were represented within the NCM of females, we recorded single-unit activity in the NCM of anesthetized mated or control females, using a relatively high impedance electrode.

Experimental procedures were performed in compliance with the guidelines determined by the national (JO 887–848) and European (86/609/EEC) legislations on animal experimentation and were conducted following the guidelines used by the animal facilities in Paris-Sud University (Orsay, France) approved by the national directorate of veterinary services (agreement # B91-429).

Telemetric device

The miniature telemetric system was designed to record multiunit activity through a single nichrome electrode fixed to the bird's head.

The complete telemetric system (weight 2285 mg) consisted of the following components (Fig. 2): on the emitting side, a lightweight headstage that was connected to a preamplifier–FM transmitter device placed on the bird's back to allow the bird to move freely; on the receiving side, an antenna placed in the acoustic isolation chamber that was connected by a coaxial cable (75 Ω ; 4 m long) to a conventional FM receiver device that was equipped with an automatic frequency control to decode the neural signal. The physical and electrical properties of the telemetric device are given in Table 1.

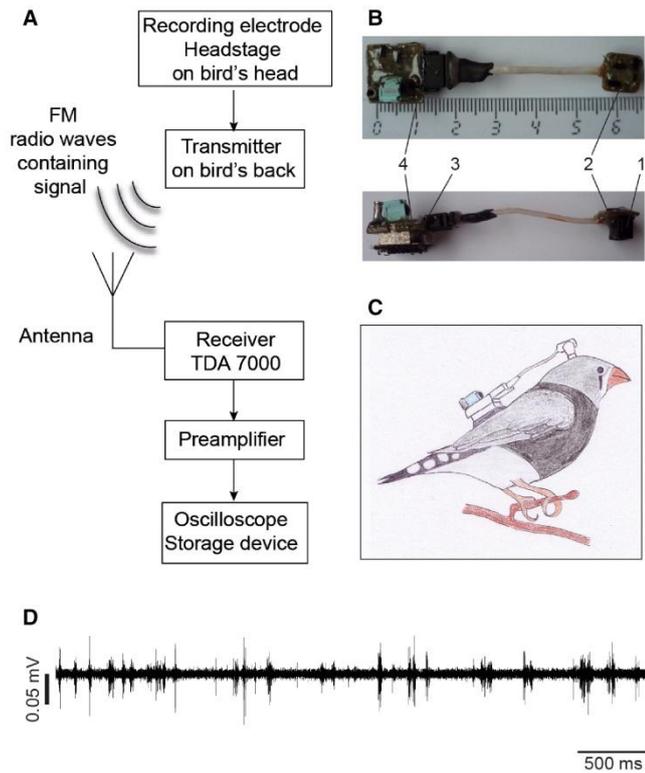


FIG. 2. Telemetry system. (A) System overview showing (B) all components and (C) the complete system worn by a zebra finch. (B) 1, male connector; 2, headstage; 3, power supply; 4, preamplifier–FM transmitter. (D) Example of a signal recorded using the telemetric device.

TABLE 1. Physical and electrical specifications of the telemetric system

Property	Values for device
Channel count	1
Transmission range	5 m
Weight	2285 mg (device alone)
Dimensions	2 × 2 × 0.5 cm
Battery	40–50 h
Power supply	1 × 3V, 35 mAh, 750 mg
Bandpass for spike signal (–3 dB)	HP 160Hz– LP 15 kHz
Input impedance	1 G Ω
Carrier frequency	108–130 MHz
Signal to noise	> 40 dB
Gain	3000 (70 dB)

To record multiunit activity, a nichrome recording electrode and a stainless steel reference electrode were both crimped onto a female connector (Harwin M80-8400245; Farnell, Leeds, UK) that was cemented to the bird's head.

Headstage

The headstage was soldered to a male connector. It consisted of a very low noise junction field-effect transistor (N-Channel JFET SST201; Vishay, Nice, France) and a bipolar junction transistor (PNP BC860; Philips, Suresnes, France). The headstage has an input impedance of 1000 M Ω (through one 1000 M Ω resistor), an input noise voltage of 2 μ V (at 1 kHz) and a gain of 1 (0 dB). It was built with surface-mounted technology components, assembled on a printed circuit board (type FR4, Farnell; thickness 0.8 mm). A 50-mm-long shielded cable connected it to a custom lightweight FM transmitter module.

FM transmitter module

The FM transmitter module contained a preamplifier, RC filters and an FM transmitter. The preamplifier consisted of the same transistors as those used for the headstage. Its overall gain was 30 dB. The cut-off frequencies of the RC filters were 160 Hz high-pass and 15 kHz low-pass (–3 dB points). The FM transmitter included a low-noise, ultra-low-dropout voltage regulator (LP3985; National Semiconductor, Santa Clara, CA, USA), a UHF variable capacitance diode (BBY31; Philips), an NPN Silicon RF Transistor (BFP405; Siemens, Munich, Germany) and a large coil (diameter, 5 mm; length, 5 mm; 142 nH; Tyco Electronics, Schaffhausen, Switzerland). The regulator allowed stable FM transmission as the battery discharged over time. The amplified and filtered signal modulated a carrier wave through the variable-capacitance diode. The frequency of the carrier wave was determined by the specifics of the controlled oscillator (VCO) in combination with the variable capacitance diode and the coil. The frequency of the carrier wave varied in accordance with the amplitude of the modulating signal (i.e. spikes). The large oscillator coil served as an antenna to transmit radio frequency energy. The frequency range of the carrier wave was between 108 and 130 MHz. As with the headstage, the FM transmitter module consisted of surface-mount technology components, assembled on a printed circuit board (type FR4; thickness, 0.8 mm) and encapsulated with glue to protect the electronic components. It operated on one lithium battery (CR1220, VARTA, Ellwangen, Germany; 3V, 35 mAh, weight 840 mg) that provided 40–50 h of autonomy.

Receiving system

A flat indoor VHF antenna (SV-9210, One for All, Enschede, Netherlands; gain, 38 dB) was used to receive the modulated signal. It was placed in an acoustic isolation chamber at a distance of \sim 10 cm from the bird's cage. The antenna was connected by a coaxial cable to a homemade FM tuner that consisted of a complete FM radio circuit (TDA7000; Philips) assembled on a printed circuit board (type FR4; thickness, 1.6 mm) according to the application note AN192 (Philips). The cut-off frequency of the output filter was 15 kHz low-pass (–3 dB). Its output was sent to a GRASS P511L preamplifier (GRASS, West Warwick, RI, USA; bandpass: 300 Hz–10 kHz; gain, 5) that sent the signal to a CED power 1401 interface (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) through a coaxial cable.

Chronic experiments

Birds ($n = 8$) were anesthetized with isoflurane gas (in oxygen; induction, 3%; maintenance, 1.5%) that flowed through a small mask

over the bird's beak. In a sound attenuation chamber (model chamber AC2; IAC, New York, NY, USA), the bird was immobilized in a custom-made stereotaxic holder that allowed the head to be tilted at 45°. Lidocaine cream was applied to the skin overlying the skull before incision and a small hole was made in the inner skull layer. After making an incision in the dura, a single custom-made nichrome electrode (0.4–0.5 M Ω impedance) attached to the microconnector was positioned 0.3–0.5 mm lateral and 0.7–0.9 mm rostral to the bifurcation of the central sinus, into either the left or the right hemisphere, using a micromanipulator. The reference electrode was inserted between the outer and the inner skull layers. After lowering the recording electrode into the brain, when the signal-to-noise ratio was relatively high we briefly presented call stimuli to ensure that the recorded neurons showed an auditory response. The final placement depth of the electrode ranged from 1200 to 1900 μ m below the brain surface. Many females received two fixed electrodes. The microconnectors were fixed with dental acrylic cement.

After a week-long recovery period, the electrodes were connected to the FM transmitter device that was placed on the bird's back, and the bird transferred to a 60 \times 30 \times 40 cm plastic mesh cage (the use of metal parts was avoided to prevent interference with the reception of radio waves). The bird was then placed in a sound attenuation chamber containing a speaker through which the call stimuli were presented. The chamber was illuminated and a microphone was used to remotely monitor calling behaviour. Although the telemetric device was relatively heavy in comparison with the bird's weight, it did not prevent the bird from freely moving because it was placed on the bird's back (supplementary movie at http://www.cnps.u-psud.fr/up/menardy_telemetric_system_zf4.mov). Awake freely moving birds exhibited all normal behaviours, including perching and calling. In particular, as previously described (Vignal *et al.*, 2004, 2008), the presentation of the mate's call generally evoked a stereotypic behaviour in which they approached the source of the sound and they responded by emitting a call. Females that were implanted with two electrodes underwent one electrophysiological recording session per electrode, each conducted on a single day, with at least 1 week separating the two recording sessions. A typical experiment lasted a maximum of 2 h and took place between either 09:00 and 12:00 or 14:00 and 17:00. Calls were presented when the female was silent.

Each call of the set of auditory stimuli was presented successively 50 times to each site, in blocks of 10 calls with an interstimulus interval of 1 s within a block and of 5 s between two blocks. A silence of 30 s separated the playback of two different call stimuli. All stimuli were normalized to achieve a maximum amplitude of 65–70 dB (Avisoft software) at the level of the bird. They were presented in random order and we ensured that the same call stimulus did not appear twice at the same position in three successive birds.

Acute experiments

Females (12 mated and five control) were anesthetized and prepared for neural recordings as described above. After stereotaxic location of the left or right NCM, a relatively high impedance tungsten microelectrode (10–12 M Ω ; FHC, Inc. Bowdoin, ME, USA) was lowered into the brain with a microdrive to a depth of \sim 2 mm below the brain surface. The coordinates used were in most cases 0.8 mm anterior (range, 0.5–0.9) and 0.4 mm lateral (range, 0.2–0.5 mm) to the bifurcation of the sagittal sinus and 1.4 mm deep (range, 1.0–1.9 mm). Recording sites were at least 100 μ m apart to guarantee that the neural activity recorded from two successive sites originated from different units. Once the last neural recording was achieved, an electrolytic lesion was made by passing current (10 μ A for 10 s) through the recording electrode.

The neural signal was amplified (gain, 5000; bandpass, 0.3–10 kHz), monitored on-line via an oscilloscope and sent in parallel to an audio monitor. When the neural trace was dominated by one individual neuron, sound stimuli were delivered. The neural signal was digitized by a data acquisition system (CED Power 1401 interface; Cambridge Electronic Design) and stored on a personal computer. In parallel, as an additional channel, call stimuli were concomitantly recorded using a microphone and digitized by the CED system. This enabled us to precisely determine the onset of the sound stimulus with respect to the auditory response.

As described above, a set of three call stimuli was played while recording from each single unit. Once the set was completed we searched for a new recording site. We played call stimuli in a random order while recording from different sites. When we recorded the neural activity of a single unit in a control female, we presented the same set of three call stimuli used to examine auditory responses in a selected anesthetized mated female. The three call stimuli had never been heard previously by the control female. The stimulus sets of two different mated females were successively presented to each control female. Single units in both mated and control females were tested with the calls of two different familiar males (Fam1, 64% and Fam2, 36%) and two different unfamiliar males (Unfam1, 64% and Unfam2, 36%).

Data processing and analysis

Analysis of responses to call stimulus presentation

In anesthetized females, neural traces dominated by the activity of a single neuron were subject to template-based spike detection and sorting (Spike2 software, version 5; CED, Cambridge, UK). In chronically implanted birds, neural traces of multiunit activity (AMU) were subjected to threshold spike detection. All spike event times were binned at 10-ms intervals for analysis. For all repetitions of a given call stimulus at a single recording site, a peristimulus histogram (10 ms per bin) was built. Spiking activity was first analysed by calculating spontaneous activity (defined as the mean frequency of spikes generated in the last 500 ms preceding call presentation). We also measured spike frequency during and for 50 ms following call stimulus presentation.

To evaluate the degree of excitation driven by a given call stimulus, we quantified the length of the call stimulus which resulted in a significant increase in the spike rate over baseline levels. To this end, we calculated the number of 10-ms bins during which spiking activity exceeded the mean spontaneous firing rate by at least 4 SD and divided this by the total number of bins covered by the call stimulus.

Spike rates can vary broadly across a population of single units. To estimate the strength of the response evoked by a sound stimulus, it was important to control for differences in the level of spontaneous activity between units and to limit the influence of one or a few very active units. To this end, we normalized each unit's stimulus response as reported in Stripling *et al.*, 1997, 2001. The response strength (RS) index was calculated by subtracting the spontaneous activity rate (S_{baseline}) from the activity rate generated during the stimulus presentation (S_{during}), and then dividing this value by their sum:

$$RS = (S_{\text{during}} - S_{\text{baseline}}) / (S_{\text{during}} + S_{\text{baseline}})$$

RS values fall between +1 and -1, where values > 0 indicate an excitatory response and values < 0 indicate an inhibitory response.

To quantify each neuron's call selectivity, the psychophysical metric d' , which estimates the discriminability between two stimuli, was used (Green & Swets, 1966; Theunissen & Doupe, 1998). The d' value for the response to a given stimulus A relative to a different stimulus B is calculated as follows:

$$d'_{A-B} = 2(R_A - R_B) / \sqrt{(\sigma_A^2 + \sigma_B^2)}$$

where R is the difference between the firing rate during presentation of a given stimulus and that during the baseline period, and σ^2 is its variance. A d' value of 0 signifies an absence of selectivity, i.e. equivalent responses to both stimuli. As most multiunits and single units exhibited an increase in the firing rate over baseline levels in response to any call stimulus, a positive d' value signifies a response bias to stimulus A while a negative values a response bias to stimulus B. As discussed by Nealen & Schmidt (2006), because the d' metric is symmetric about zero, i.e., may vary in either the positive or negative direction, a population-level description of auditory selectivity is best revealed by comparing observed indices to 0. A d' value of $> +1$ or < -1 was used as the criterion for identifying a cell as highly selective. We ensured that all single units with a d'_{A-B} value of $> +1$ were significantly more driven by stimulus A than by stimulus B: all these neurons showed a higher firing rate during stimulus A than during stimulus B (all $P < 0.001$). To examine whether auditory experience affected the selectivity of NCM neurons, we compared the number of highly selective cells using a χ^2 -test.

Analysis of response habituation

We also examined whether firing-rate habituation differed between call stimuli. Auditory responses to a stimulus in the NCM are initially vigorous, but habituate rapidly when the stimulus, a song or a call, is repeated (Chew *et al.*, 1995; Stripling *et al.*, 1997, 2001; Phan *et al.*, 2006). The habituation rate was calculated at each electrode site for each call stimulus by performing a trial-by-trial analysis of responses (raw spike rate) to 50 call stimulus presentations. To evaluate the statistical significance of any interaction between repetition and call identity, a repeated-measures ANOVA was performed. When responses (raw spike rate) are plotted against presentation number, the slope of the linear portion of the resulting function is the habituation rate. We computed a linear regression for the responses to the 45 last presentations in order to further compare regression slopes between call stimuli.

Analysis of amount of information

To investigate whether social experience with the calls of individual males affected the auditory properties of NCM neurons, we quantified the amount of transmitted information in the neuronal responses. The method, described by Schnupp *et al.* (2006), consists of evaluating how well the responses of a neuron differentiate between different call stimuli by calculating the mutual information between call stimuli and neural spike trains. As a first step, peristimulus time histograms (PSTHs; 10-ms bin width) were created on a neuron-by-neuron and trial-by-trial basis. Three time intervals following call onset (100, 200 or 300 ms) were considered. Each response pattern, i.e. each spike train, was converted into a list of spike count values; these can be thought of as a vector in a multidimensional space and one can quantify how similar two response patterns are by calculating the Euclidean distance between these two responses in this space. Each response in turn was picked as a test pattern and was assigned to the call stimulus that was the closest in terms of Euclidean distance. The accuracy of the classification by the decoder algorithm, i.e. the proportion of assignments to the correct call stimulus, was then calculated. In short, if the response patterns are reproducibly similar among repeated presentations of the same stimulus and reproducibly different from patterns evoked by other stimuli, the response patterns will form distinct clusters in the response space and most patterns will

be correctly assigned. However, if the responses lack reproducible and distinctive patterns then the assignment will essentially be random. This procedure was repeated until each trial of a neuron was considered as a test pattern and until each time interval was taken into account. A confusion matrix allowed an estimation of the mutual information (MI) between the response and stimulus class, depending on the time interval selected. The MI (in bits) is given by Shannon's formula:

$$MI = \sum_{x,y} p(x,y) \cdot \log_2(p(x,y)/p(x) \cdot p(y))$$

where x and y are the values obtained by the random variables 'presented stimulus class' and 'assigned stimulus class' ($x, y \in \{1, 2, 3\}$) and one adopts the convention where $0 \cdot \log(0)$ equals 0. The *a priori* probability, $p(x)$, of any one stimulus evoking any one particular response is $1/3$. The probability of a response being assigned to any one stimulus class, $p(y)$, and the joint probability of observing a particular combination of stimulus and response assignments, $p(x,y)$, were estimated from the observed frequency distributions in the confusion matrix. We also estimated the expected magnitude of a bias by calculating MI values for 'shuffled' data, in which the response patterns had been randomly reassigned to stimulus classes. The shuffling was repeated 20 times and the mean MI estimate for the 20 shuffled datasets was used as an estimator for the bias. Bias estimates varied little from unit to unit: the median bias was 0.10 bits per response and it did not exceed 0.19 bits per response. All MI values reported below are 'bias-corrected,' i.e. the bias estimate obtained for each unit was subtracted from the original MI estimate. These computations were performed using a CUSTOM software in the R environment.

Statistical methods

The normality of the population was first assessed with the Liliefors test with $P < 0.05$ (Statistica v8.0; StatSoft, Inc.). Auditory response data were mostly analysed with parametric statistics. However, when data did not meet the assumption of a normal distribution we used nonparametric tests. Responses to call stimuli were appraised by the use of repeated-measures ANOVAs or the Friedman test, which is the nonparametric equivalent. We tested the effects of two factors (call identity and group) and their interactions on RS values in a linear mixed model. Distributions of data were analysed using a χ^2 -test. All comparisons were two-tailed ($P < 0.05$).

Histology

At the end of each experiment, the animal was killed with a lethal dose of pentobarbital and the brain quickly removed from the skull and placed in a fixative solution (4% paraformaldehyde). Brains were subsequently immersed in 20% sucrose in PBS solution for cryoprotection. Sections (30 μ m) were cut on a freezing microtome and processed for Cresyl violet staining. They were examined for electrode penetration tracks and the electrolytic lesions made to indicate recording sites (Fig. 3).

Results

Awake mated females

To examine the neural correlates of call-based recognition, we measured the auditory responses of NCM neurons in awake mated

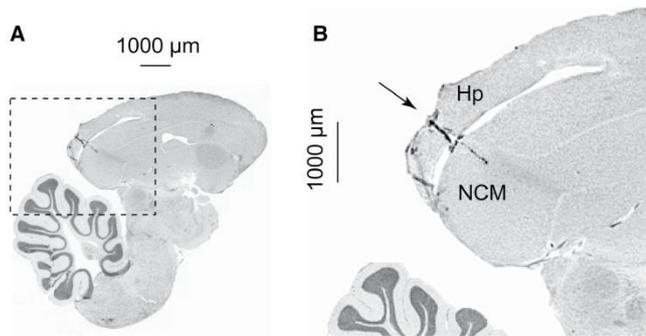


FIG. 3. Recording location. (A) Parasagittal section of a zebra finch brain showing an electrode tract in the NCM. (B) Higher magnification of inset (A): the arrowhead marks the point of electrode penetration. Hp, hippocampus; NCM, caudomedial nidopallium.

females to the presentation of male call stimuli, including the mate's call, a familiar call and an unfamiliar one.

Preference in terms of response magnitude for both the mate's call and the familiar call

The activity of 14 multiunit sites was recorded in the NCM of eight mated females (one or two electrodes per female). The NCM is a large auditory area in which the properties of neurons vary among subregions (Chew *et al.*, 1995; Ribeiro *et al.*, 1998; Thompson & Gentner, 2010). Our recordings were carried out in the dorsostral subregion (maximum depth 1.9 mm). All sites exhibited a robust increase in the discharge rate in response to at least one call stimulus (see an example of call-evoked responses in Fig. 4). Quantitatively, the presentation of call stimuli caused, on average, a four-fold increase in neural activity over the spontaneous firing rate (mean spontaneous rate \pm SEM: 14.3 ± 3.9 spikes/s) and the duration over which the spiking activity was significantly increased, measured by the number of 10-ms bins in which activity exceeded the baseline level by 4 SD, equalled 65% of the call length.

Call-evoked changes in activity differed between call stimuli. When the response magnitude was evaluated based on changes in the spike rate, the three call stimuli differentially drove NCM multiunits ($F_{2,26} = 5.08$, $P = 0.01$). Using an RS index that normalized data to a combination of the spontaneous rate and the call-evoked rate of each multiunit recording site (Stripling *et al.*, 1997, 2001; see Materials and methods), auditory responses differed between call stimuli (Friedman test, $P = 0.036$).

Further comparisons revealed a clear preference for the mate's call over the call that had never been heard previously. The mate's call drove multiunit activity more vigorously than the unfamiliar call (mean spike rate \pm SEM: 59.1 ± 6.9 vs. 41.3 ± 5.3 spikes/s; $F_{1,13} = 4.65$, $P = 0.042$). Consistently, RS values also differed between the two call stimuli (Wilcoxon test, $P = 0.025$; Fig. 5A). In addition, we examined the degree of selectivity of call-evoked responses for the mate's call over the unfamiliar call using the d' index. A d' value of $> +1$ or < -1 was used as the criterion for identifying a cell as highly selective. The response of most multiunits was selective for the mate's call over the unfamiliar call (mean d' value \pm SEM: 1.55 ± 0.8 ; $t_{1,13} = 4.68$, $P < 0.001$); of the 14 multiunit sites, nine (64%) had a d' value of $> +1$ and two had a d' of < -1 . Most NCM multiunits were therefore capable of discriminating between the mate's call and an unfamiliar call, with a bias for the mate's call.

The presentation of a familiar call that had been heard by the female for at least 3 days also evoked robust auditory responses, which were

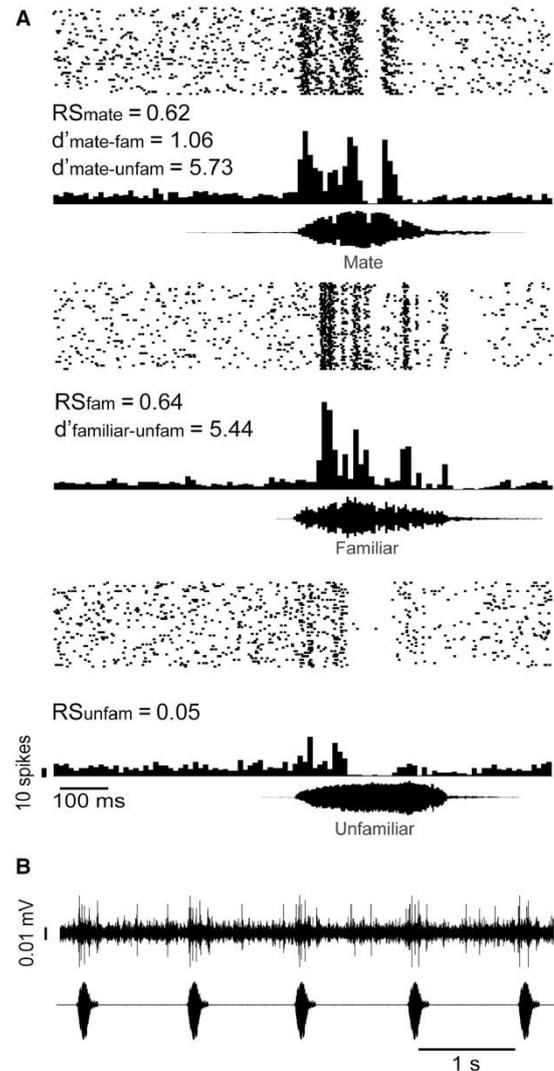


FIG. 4. Clear preference for familiar call stimuli. (A) Multiunit responses recorded in an awake freely moving female showing stronger responses to both the mate's call and the call of a familiar male than to the call of an unfamiliar male. Multiunit spike rasters representing responses over 50 trials of a given call stimulus are summed to obtain the peristimulus time histogram (PSTH; 10-ms bin width). Calls used as auditory stimuli are depicted in waveform at the bottom of the panels. The RS index estimates the strength of the responses evoked by call stimulus presentation. The selectivity index d'_{A-B} estimates the degree to which auditory responsiveness is biased toward stimulus (A) over stimulus (B). (B) Sample trace showing raw voltage recorded during five repetitions of the mate's call.

significantly greater than those evoked by the unfamiliar call (spike rates, 69.6 ± 8.6 vs. 41.3 ± 5.3 spikes/s; $F_{1,13} = 10.57$, $P = 0.006$; RS, Wilcoxon test, $P = 0.015$; Fig. 5A). In addition, selectivity for the familiar call over the unfamiliar one was evident. The averaged mean d' value was 2.48 ± 0.74 ($t_{1,13} = 2.04$, $P = 0.04$), with nine of 14 multiunit sites having a d' value of $> +1$ and one of 14 with a d' of < -1 . Given these results, neurons in the NCM of awake mated females at least appeared capable of categorizing the calls of males as 'familiar' or 'novel'.

It remained to be assessed whether call-evoked responses reflected the degree of familiarity. Call-evoked changes in neural activity did not reveal any difference in overall response magnitude between the mate's call and the familiar call (spike rate, $F_{1,13} = 0.82$, $P = 0.38$; RS, Wilcoxon test, $P = 0.43$; Fig. 5A). This suggests that NCM

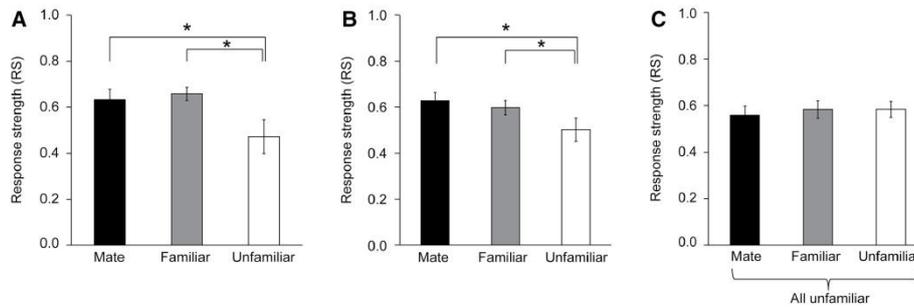


FIG. 5. Call stimuli evoke differential responses in mated females. In (A) awake as well as in (B) anesthetized mated females, presentation of either the mate's call (Mate) or the familiar call (Familiar) evoked significantly greater responses (*, all $P < 0.05$) than presentation of the unfamiliar call (Unfamiliar). (C) The same call stimuli did not evoke differential responses in anesthetized control females that had not heard them previously. Each bar represents the mean \pm SEM of the response strength index (RS).

neurons did not distinguish between the two call stimuli. Concordantly, the overall d' value did not reveal any clear preference for either of the two calls (mean \pm SEM, -0.67 ± 0.79 ; $t_{1,13} = 0.6$, $P = 0.55$). However, the focus on the number of highly selective cells yielded another picture. Most recording sites (12/14) exhibited a d' value of either $> +1$ or < -1 . Some exhibited a preference for the mate's call ($d' > +1$; seven of 14) while others preferred the familiar call ($d' < -1$; five of 14). Therefore, these last results suggest a bias toward either the mate's call or the familiar call rather than a lack of discrimination between the two calls.

Similar habituation rates to the different call stimuli

One of the main characteristics of the auditory responses of NCM neurons is a decline in their magnitude with song or call repetition (Chew *et al.*, 1995). This also occurred in our study. By the tenth repetition, on average, the RS had declined to 70–80% of its initial value (Fig. 6). Based on the mean spike rate during call presentation (trial 1 vs. trial 45–50), repetition significantly affected the magnitude of the responses, regardless of the identity of the male that produced the call stimulus (mate's call, $F_{1,13} = 8.5$, $P = 0.007$; familiar call, $F_{1,13} = 6.17$, $P = 0.019$; unfamiliar call, $F_{1,13} = 4.94$, $P = 0.035$).

A previous study reported that, in males, the rate of habituation of NCM auditory responses differed between a novel song stimulus and a song heard early in development, the tutor's song; the habituation rate

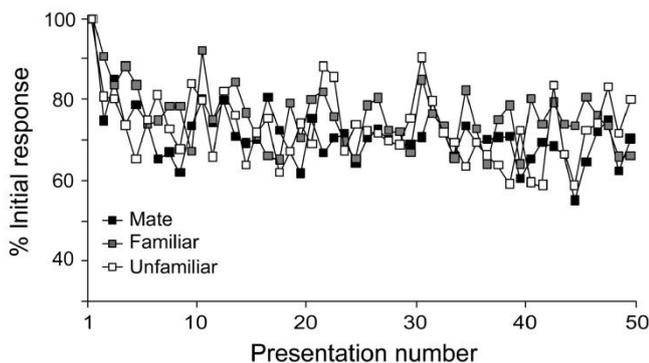


FIG. 6. Response habituation with repeated-call stimulus presentation. Trial-by-trial responses are shown for the mate's call (dark gray squares), the familiar call (light gray squares) and the unfamiliar call (white squares). Responses are expressed as a percentage of the response at trial 1. While response magnitude differed between either the mate's call or the familiar call on the one hand and the unfamiliar call on the other, similar modulation rates were observed.

was higher for novel than for familiar song stimuli (Phan *et al.*, 2006). As the presentation of either the mate's call or the familiar call elicited a stronger response than the unfamiliar call, it was of importance to examine whether a mechanism of plasticity that relied on stimulus exposure, such as habituation, could have contributed to the difference in response magnitude between call stimuli. No significant interaction was found between call repetition (trial 1 vs. trial 45–50) and call identity, indicating that the habituation rate did not differ between call stimuli ($P > 0.37$ for all comparisons). Also, the habituation rate of each multiunit site to a given call stimulus was estimated by computing the linear regression (Phan *et al.*, 2006). The slope of the response curve did not differ between call stimuli, indicating that habituation was not slower for the mate's call or the familiar call than for the unfamiliar call (repeated-measures ANOVA, $F_{2,26} = 0.78$, $P = 0.48$). Taken together, these results rule out the contribution of any habituation-dependent mechanism of plasticity to explain the observed differences in response magnitude between call stimuli in mated females.

Anesthetized mated vs. control females

To further examine how calls varying in familiarity are represented in the dorsorostral NCM of females, the auditory responses of single units were recorded in anesthetized mated females ($n = 12$). The preference of the population of NCM neurons for either the mate's call or the familiar call over the unfamiliar call could result from memorization, but it could also be due to another process, such as a more pronounced sensitivity to certain acoustic features of vocalizations. To address this issue, we examined auditory responses driven by the three call stimuli in control females that had never heard them before ($n = 5$). To do so, we quantitatively analysed the call-evoked responses of 68 well-isolated single units in mated females and 69 single units in control females.

As reported by Stripling *et al.* (1997), NCM single units in our study varied widely (up to 30-fold) in their rate of spontaneous activity. Also, there was considerable unit-to-unit variability in the pattern of responses of NCM responses to call stimuli, as previously observed (Stripling *et al.*, 1997, 2001; Terleph *et al.*, 2006). Figure 7 gives examples of different call-evoked responses that were driven by the same familiar and unfamiliar call stimuli. Some cells responded to the playback of a call stimulus with sustained activation for the duration of the stimulus while others showed maximal firing soon after stimulus onset (with a latency of 20–30 ms) followed by a more-or-less abrupt decline in activity to the baseline level throughout the rest of the stimulus. Quantitatively, the presentation of call stimuli caused,

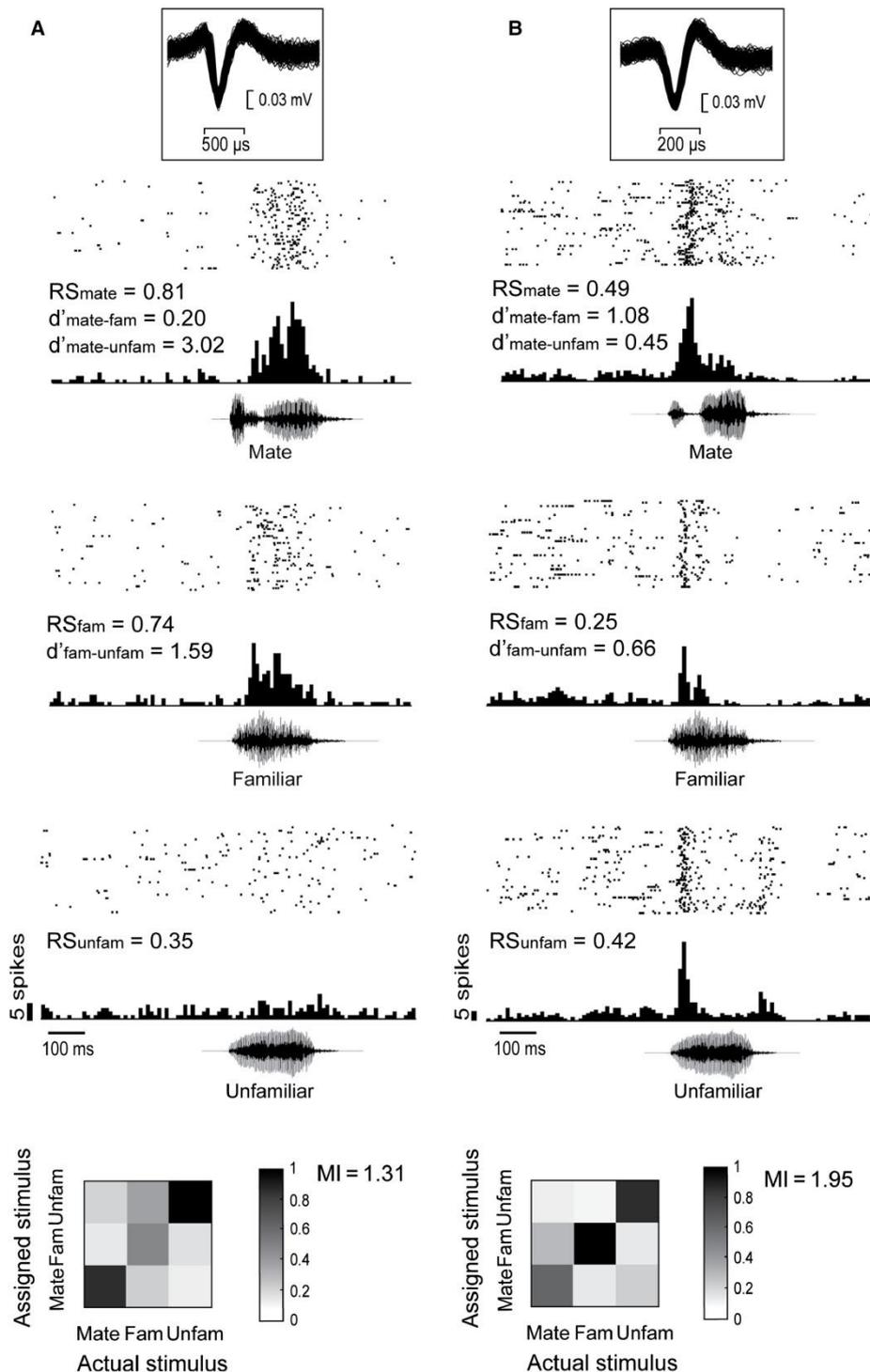


FIG. 7. Responses of two single units to presentation of male call stimuli. The units (A, B) were recorded in two different anesthetized mated females. The inset shows the overlay of spike waveforms. The top part of each panel depicts a spike raster representing responses over 50 trials, which are summed to obtain the PSTH (10 ms bin width) below each raster. The call stimuli used in these presentations are depicted in waveform at the bottom of each panel. Note the difference in the pattern of responses of the two units to the presentation of the same familiar and unfamiliar calls. Below, 'confusion matrices' illustrate the proportion of assignments to the correct stimulus. The grayscale represents the proportion of the 50 responses to the call stimulus indicated on the *x*-axis that was estimated to be closest to the responses evoked by the call stimulus indicated on the *y*-axis and assigned to this stimulus. A black diagonal on a white background would indicate the assignment of all spike trains to the correct stimulus.

on average, a four-fold increase in neural activity over the spontaneous firing rate (mean spontaneous rate \pm SEM, 2.79 ± 0.49 spikes/s).

Differences in call-evoked response strength between mated and control females

To limit the influence of one or a few units and to facilitate population comparisons, we focused on the normalized RS index. The linear mixed model on RS values (using call identity and group as factors)

revealed a significant difference between call stimuli ($F_{2,135} = 3.64$, $P = 0.027$) and a significant interaction between the two factors ($F_{2,270} = 6.58$, $P = 0.002$).

In mated females, the mate's call evoked greater auditory responses than the unfamiliar call (Fig. 5B; $F_{1,135} = 7.74$, $P = 0.01$). We then focused on the distribution of responses to these two call stimuli in a preliminary attempt to assess their representation in the NCM. A significant difference in the distribution of RS values was found between the mate's call and the unfamiliar call (interval size 0.2; 10 intervals from -1 to $+1$; $\chi^2 = 22.3$, d.f. = 9, $P = 0.007$). Importantly, the proportion of NCM single units exhibiting robust auditory responses to the two calls was similar: both call stimuli elicited a response with an RS value of > 0.6 from half of the NCM single units (Fig. 8A, left). The difference in distribution between the two stimuli lay in the proportion of neurons that showed very low RS_{unfamiliar} values. As independent cumulative distributions do not indicate whether a neuron that responded strongly to the unfamiliar call also responded strongly to the mate's call and *vice versa*, we plotted RS values for the unfamiliar call against RS values for the mate's call for all single units (Fig. 8A, right). Most neurons with an RS_{unfamiliar} of ≤ 0.6 are biased toward the mate's call (28/32 cells) while most neurons with an RS_{unfamiliar} of > 0.6 responded robustly to both call stimuli. In the light of the results, one could assume that the subset of cells that responded weakly to the unfamiliar call (RS_{unfamiliar} ≤ 0.6) supported the overall preference in terms of mean RS for the mate's call over the unfamiliar call. Further analysis of the degree of discriminability in the response to the call stimuli using a selectivity index (the d' index) served to address this issue (see below).

Playback of the familiar call also elicited stronger responses than the unfamiliar call ($F_{1,135} = 4.34$, $P = 0.04$). Again, the distribution of

the number of neurons according to their RS values differed between the two call stimuli ($\chi^2 = 16.6$, d.f. = 9, $P = 0.05$). The main difference lay in the proportion of neurons that displayed very low response magnitudes (data not shown). Lastly, our results did not reveal any difference in neuronal responses between the mate's call and the familiar call ($F_{1,135} = 0.83$, $P = 0.37$; distribution of RS values, $\chi^2 = 14.3$, d.f. = 9, $P = 0.11$).

Previous statistical analyses used data from each single unit as a sample. The number of recorded single units however differed between mated females (range, 2–9). To minimize the possible effects of this difference, the number of data points was reduced to match the number of females. Using mean RS values per bird, we found a similar pattern of results (mate's call, 0.63 ± 0.04 ; familiar call, 0.60 ± 0.04 ; unfamiliar call, 0.52 ± 0.07 ; Friedman test, $P = 0.046$). The mate's call as well as the familiar call evoked stronger auditory responses than the unfamiliar call (Wilcoxon test, mate vs. unfamiliar, $P = 0.015$; familiar vs. unfamiliar, $P = 0.035$) with no difference between the mate's call and the familiar call ($P = 0.37$).

In control females, each of the three call stimuli, all of which were unfamiliar, could also elicit very strong responses (see mean RS value in Fig. 5C). Analysis of call-evoked responses did not reveal any difference in RS between the three call stimuli ($P > 0.41$ for all comparisons), nor did the distributions of RS values differ between call stimuli ($P > 0.35$ for all comparisons). Importantly, when RS_{unfamiliar} was plotted against RS_{mate} within cells, cells that responded weakly to the unfamiliar call (RS_{unfamiliar} ≤ 0.6) did not show a clear preference for the mate's call (Fig. 8B). Therefore, the calls used as auditory stimuli in the present study did not differ in their potential to drive auditory responses in the NCM of control females.

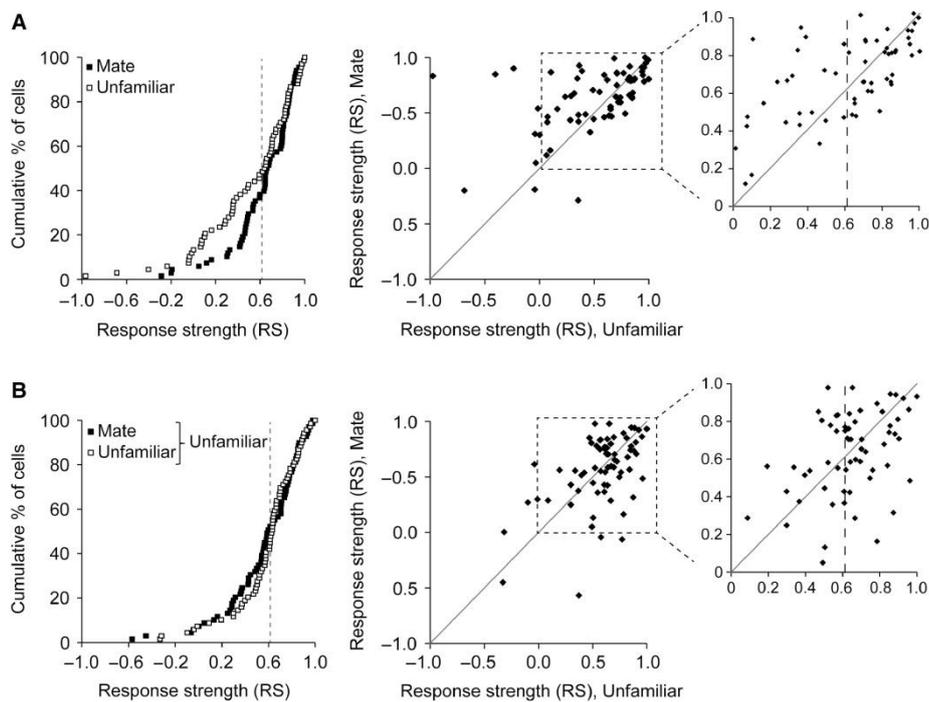


FIG. 8. (A) A subset of cells show a preference for the mate's call over the unfamiliar call in anesthetized mated females. (B) No such preference was seen in control females. Cumulative distributions (left panels) of the strength of responses evoked by the mate's call (filled squares) or the unfamiliar call (open squares). Each square represents a single unit. Single units were ordered according to their RS value. Note that cumulative distributions overlap in control females. Within-cell comparisons of RS values (middle panels). The RS for the mate's call (y -axis) is plotted against that for the unfamiliar call (x -axis). The figure on the right is an enlargement of the inset. Each dot represents a single cell. The diagonal line represents equal responsiveness to both stimuli. Points to the left of the diagonal line are biased toward the mate's call while points to the right are biased toward the unfamiliar call. In mated females, most of cells with an RS of ≤ 0.6 (dashed line) were to the left of the diagonal line.

We further compared call-evoked responses between mated and control females focusing successively on each of the three call stimuli. The two call stimuli that could be probably recognized by mated

females evoked responses that did not differ between the two groups of females (mate's call, $F_{1,135} = 1.79$, $P = 0.18$; distribution of RS_{mate} values, $\chi^2 = 12.4$, d.f. = 9, $P = 0.19$; familiar call, $F_{1,135} = 0.09$, $P = 0.76$; distribution of RS_{familiar} values, $\chi^2 = 12.5$, d.f. = 9, $P = 0.18$). In contrast, the call stimulus that was unfamiliar for all the females elicited responses that showed some differences between mated and control females. Although there was no difference in $RS_{\text{unfamiliar}}$ values ($F_{1,135} = 1.83$, $P = 0.17$), distributions of data were found to significantly differ between mated and control females ($\chi^2 = 28.4$, d.f. = 9, $P = 0.008$). More cells had a low $RS_{\text{unfamiliar}}$ value in mated than in control females. When the cell population was divided into two subsets according to their $RS_{\text{unfamiliar}}$ values ($RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$ or $RS_{\text{unfamiliar}} > 0.6$), the subset of neurons with an $RS_{\text{unfamiliar}}$ of ≤ 0.6 (32/68 cells in mated females and 28/69 in control females) responded more weakly in mated than in control females (0.16 ± 0.06 vs. 0.34 ± 0.05 ; $F_{1,58} = 4.74$, $P = 0.03$). In contrast, the other subset ($RS_{\text{unfamiliar}} > 0.6$) did not show any significant difference between the two groups of females (0.81 ± 0.02 vs. 0.75 ± 0.03 ; $F_{1,75} = 1.98$, $P = 0.15$). Taken together, these results suggest that the auditory experience that leads to call-based recognition causes a decrement in the response magnitude of at least a subset of cells to irrelevant call stimuli.

Lastly, we examined whether the time course of responses to 50 repetitions of a given call stimulus depended on its degree of familiarity. Repetition of the three call stimuli induced a slight decrease in RS values in both groups of females, with no difference in the habituation rate between mated and control females, regardless of the call stimulus presented: we did not find any significant interaction between call repetition (trial 1 vs. trial 45–50) and groups ($P > 0.31$ for all comparisons). Therefore, the habituation phenomenon does not appear to account for the differential response to the three call stimuli that was exhibited by NCM neurons in mated females.

Difference in the degree of selectivity of call-evoked responses between mated and control females

We examined whether a high degree of selectivity of auditory responses for calls arose as a result of social experience with individual males. Data collected in control females allowed us to address this issue by comparing the number of highly selective cells (cells with a d' value $> +1$ or < -1) across the population of neurons in the two groups of females.

We first assessed selectivity for the mate's call over the unfamiliar call. As shown by the distributions of d' values, the range of d' values was broader in mated than in control females (Fig. 9A). More cells had a d' value of $> +1$ in mated than in control females (14/68 vs. one of 69; $\chi^2 = 12.42$, $P = 0.0004$) while the number of cells with a d' value of < -1 did not significantly differ between the two groups (eight of 68 vs. two of 69; $\chi^2 = 2.47$, $P = 0.11$). We next attempted to determine which cells were highly selective for the mate's call. We mentioned above that, in mated females, most neurons that responded relatively weakly to the unfamiliar call ($RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$) showed

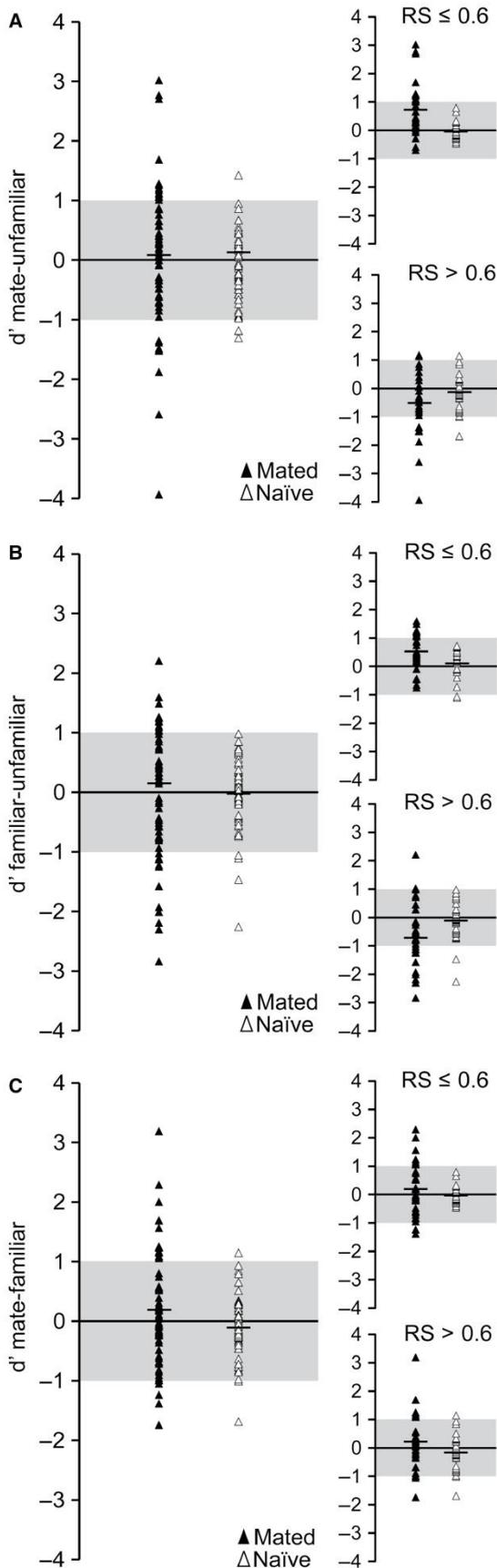


FIG. 9. Differences in the degree of selectivity of call-evoked responses between mated and control females. The selectivity of responses for (A) the mate's call over the unfamiliar call, for (B) the familiar call over the unfamiliar call and (C) for the mate's call over the familiar call is described in terms of the distribution of d' values. The more positive the d' value, the more selective the response. Each dot represents a neuron. Distribution means are indicated by a horizontal bar. Plots on the right show the distribution of subsets of cells that responded relatively weakly ($RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$; top) or more robustly ($RS > 0.6$; bottom) to the unfamiliar call stimulus. More cells had a d' value of $> +1$ or < -1 in mated than in control females.

greater RS values with the mate's call than with the unfamiliar call. Consequently, we further analysed d' values after dividing the cell population into two subsets, those with an $RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$ and those with an $RS_{\text{unfamiliar}} > 0.6$. As expected, in mated females, most cells that were highly selective for the mate's call over the unfamiliar call ($d' > +1$) had an $RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$ (12/14 cells).

We also suggested above that cells with an $RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$ could support the overall difference between the strength of the response to the mate's call and to the unfamiliar call. As shown by the distributions of d' values of cells with an $RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$ (Fig. 9A, top right), there was a shift toward positive and greater d' values in mated females than in control females. The degree of selectivity, i.e. the magnitude of the d' value, was significantly greater in mated than in control females (mean d' value \pm SEM, -0.06 ± 0.06 vs. 0.75 ± 0.16 ; $F_{1,58} = 4.49$, $P < 0.001$). The subset of cells with an $RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$ therefore showed greater selectivity for the mate's call over the unfamiliar call in mated females than in control females. In contrast, the majority of cells with an $RS_{\text{unfamiliar}} > 0.6$ in mated females had a negative d' value and did not exhibit any significant difference in their degree of selectivity when compared to cells in control females (mean d' value \pm SEM, -0.50 ± 0.17 vs. -0.16 ± 0.09 ; $F_{1,75} = -1.86$, $P = 0.07$; Fig. 9A, bottom right). Cells that responded relatively weakly to the unfamiliar call stimulus ($RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$) could therefore be viewed as supporting the preference for the mate's call over the unfamiliar call previously observed in terms of response strength.

Analysis of d' values quantifying the degree of selectivity for the familiar over the unfamiliar call yielded to the same picture (Fig. 9B). The number of cells with a d' value of $> +1$ were greater in mated than in control females (11/68 vs. 0/69; $\chi^2 = 3.78$, $P = 0.05$). Most of cells with an $RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$ had a positive d' value in mated females (Fig. 9B, top right) and their degree of selectivity for the familiar call was significantly accentuated in mated females when compared to control females (mean d' value \pm SEM, 0.51 ± 0.10 vs. 0.14 ± 0.09 ; $F_{1,58} = 2.65$, $P = 0.01$). The majority of cells with an $RS_{\text{unfamiliar}} > 0.6$ had a negative d' value in mated females (Fig. 9B, bottom right). Taken together, these results indicate that, in mated females, the subset of cells exhibiting relatively poor sensitivity to the unfamiliar call stimulus ($RS_{\text{unfamiliar}} \leq 0.6$) supported the preference for both the mate's call and the familiar call over the unfamiliar call.

Results also revealed a more pronounced bias toward the mate's call over the familiar call in mated than in control females (Fig. 9C). More cells had a d' value of $> +1$ in mated than in control females (16/68 vs. one of 69; $\chi^2 = 15.36$, $P = 0.0001$; with no difference in the number of cells with a d' value of < -1 : four of 68 vs. two of 69; $\chi^2 = 0.73$, $P = 0.39$). The auditory properties of NCM neurons could therefore reflect a difference in the degree of familiarity between the mate's call and the familiar call. We examined whether the selectivity for the mate's call over the familiar call was related to the RS for the unfamiliar call stimulus ($RS_{\text{unfamiliar}} \leq$ or > 0.6 ; Fig. 9C, right), but among cells with a d' value of $> +1$, some responded weakly to the unfamiliar call (seven of 16) while others responded robustly (nine of 16).

Finally, on the basis of the number of cells with at least one d' value of either $> +1$ or < -1 , the contrast in the auditory response to one call stimulus vs. another appeared to be enhanced in mated females. While a total of 29/68 cells in mated females had at least one d' value of $> +1$, only two of 69 cells in control females did ($\chi^2 = 30.9$, $P < 0.0001$). While a total of 19/68 cells in mated females had at least one d' value of < -1 , only seven of 69 cells in control females did ($\chi^2 = 7.05$, $P = 0.008$). These results therefore suggest that social experience with individual males affects the ability of auditory neurons to discriminate between call stimuli.

Difference in the amount of information transmitted by call-evoked spike trains between mated and control females

The previous analyses of neuronal activity performed in this study were primarily based on the spike rate averaged over the entire duration of the call stimulus. However, recent studies have emphasized the importance of the temporal pattern of discharges in the representation of natural vocalizations (Huetz *et al.*, 2006, 2009; Schnupp *et al.*, 2006). Within spike trains, temporal structure considerably enlarges the response possibilities between stimuli. Based on spike timing, even cells that are weakly responsive to vocalizations when only spike rate is considered may differentially respond to sound stimuli and therefore transmit a significant amount of information (Huetz *et al.*, 2009). We used the method described by Schnupp *et al.* (2006), which takes into account spike timing in neuronal responses, to provide additional evidence that social experience with individual males induced changes in the auditory properties of NCM neurons. The method consists of quantifying how informative the response patterns of single units are with respect to stimulus identity by calculating the MI between the stimuli and neural spike trains. Confusion matrices like those shown in Fig. 7 allowed us to estimate the MI between the response and stimulus identity.

The amount of information extracted by the classifier algorithm varied from unit to unit in both mated (Fig. 10A) and control (Fig. 10B) females, independently of the length of the spike trains available for analysis (100, 200 and 300 ms after call onset). When single units were ordered according to their averaged MI value along the x-axis of the plot, units in both groups of females appeared to form a continuum. The MI relies on both the rate and the temporal organization of call-driven spiking activity. We focused on cells that exhibited similar RS values, i.e. a similar increase in firing rate, for the three call stimuli. As illustrated by the dot raster display for the responses of four single units in Fig. 10C, such cells could exhibit different MI values. The temporal structure of call-driven responses contributed to variations in the amount of information carried by spike trains across single units.

When we compared MI values between the mated and control females, the mean MI value was significantly higher in mated females than in control females regardless of the time period following the call onset that was analysed (100 ms, 0.57 ± 0.05 vs. 0.32 ± 0.05 , $F_{1,136} = 15.34$, $P < 0.0001$; 200 ms, 0.89 ± 0.06 vs. 0.49 ± 0.05 , $F_{1,136} = 26.85$, $P < 0.0001$; 300 ms, 1.11 ± 0.06 vs. 0.65 ± 0.05 , $F_{1,136} = 25.07$, $P < 0.0001$). Temporal patterns of call-evoked responses in mated females thus appeared to be more informative than those in control females.

Lastly, we also examined whether the amount of information transmitted in call-evoked discharges of NCM neurons varied with the degree of familiarity of calls. We calculated the MI value for each stimulus class (columns of the confusion matrices allowed us to calculate these MI values). Regardless of the length of the spike trains available for analysis, the MI values were not found to differ between call stimuli in mated females (100 ms, $P = 0.22$; 200 ms, $P = 0.34$; 300 ms, $P = 0.26$) and in control females (100 ms, $P = 0.65$; 200 ms, $P = 0.61$; 300 ms, $P = 0.71$).

Quantifying how well spike trains differentiate between call stimuli thus provides additional evidence that experience with calls of individual males affects the auditory properties of NCM neurons. However, the respective contribution of the spike count and of spike timing to the amount of information transmitted by call-evoked responses still remain to be determined. Also, the temporal reliability of call-evoked responses still remains to be compared between call stimuli varying in familiarity.

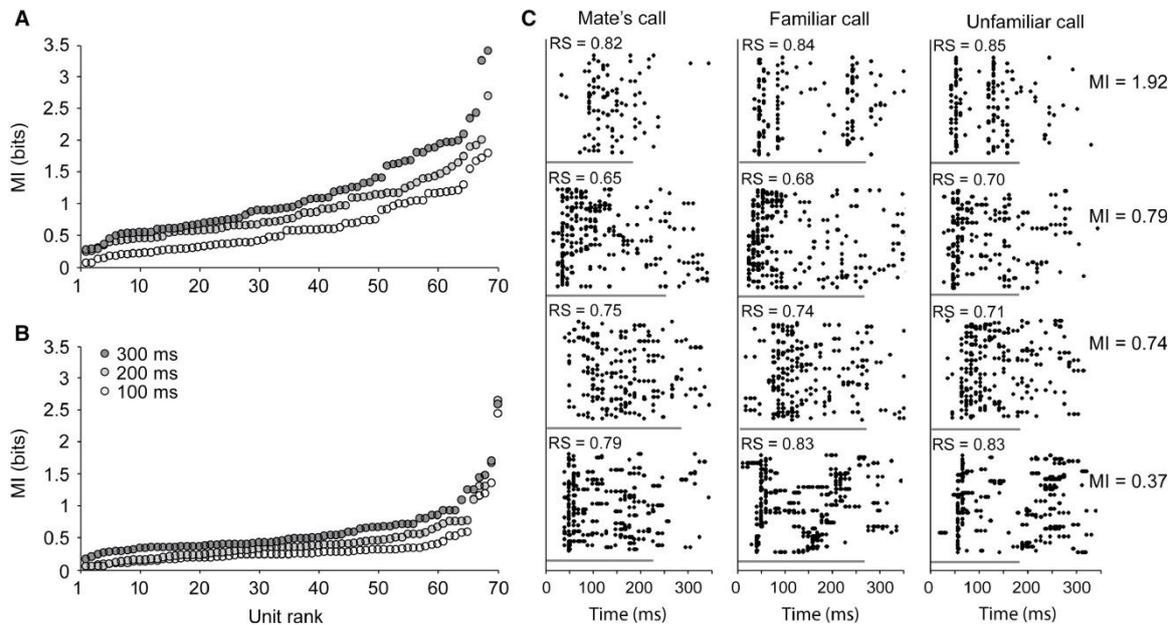


FIG. 10. Impact of social experience on the amount of information transmitted in the auditory response patterns of NCM neurons. Distribution of mutual information (MI) between call stimuli and responses in (A) mated and (B) control females. Single units were ranked according to their MI value along the x-axis. Three time periods after call onset were analysed: 100 ms (white circles), 200 ms (light gray circles) and 300 ms (dark gray circles). Each circle represents a single cell. Distribution means are indicated by a horizontal bar. (C) The diversity of temporal patterns of responses. The responses of four units to the three call stimuli were recorded in mated females in raster plot format. Responses are arranged in ascending order of MI values calculated from the 300-ms spike-train period, with the response of the least informative unit at the bottom. Note that the four units were presented with the same familiar and unfamiliar call stimuli. RS values show little variation from one call stimulus to another. The gray line underneath the raster plots indicates the duration of the call stimulus.

Discussion

A female zebra finch is able to recognize its mate on the basis of its distance call (Vignal *et al.*, 2008). This work took advantage of the process of recognition of an individual-specific communication call to search for the neural correlates of the behavioural relevance of acoustic stimuli in neuronal activity. Here, we provide the first evidence that the social conditions that probably lead to the call-based recognition of individuals affect the auditory properties of neurons in the NCM.

In mated females that were familiarized with a male from another pair, both the mate's call and the call of the familiar male evoked responses that differed in magnitude from responses to the unfamiliar call. This distinction in call-evoked neural responses was exhibited not only by the population of single units recorded in anesthetized females but also by the population of multiunits recorded in awake freely moving females. In contrast, the three call stimuli evoked responses of similar strength in females that had never heard them before, excluding the possibility that the differences observed in mated females were due to any particular acoustic features of the call stimuli. Additional results provided evidence of experience-dependent changes in call-evoked responses. A substantial proportion of cells in mated females showed a high degree of selectivity for a given call over another one (d' value $> +1$ or < -1) whereas very few cells in control females did so. Also, social experience with calls of individual males led to a substantial increase in the amount of information transmitted by spike trains. Our results therefore suggest the occurrence of changes in the representation of natural vocalizations in the NCM within the context of individual recognition.

In the present study, mated females had the opportunity to memorize the call of their mate as a result of associations between the acoustic features that encode the individual identity of the bird

within the call and visual or other sensory cues. They also had the possibility to communicate with a familiar male through visual and auditory interactions. The distinction in call-evoked responses of NCM neurons in mated females could, therefore, be viewed as resulting from social interactions. However, it could be due to previous exposure to some of these sound stimuli. Adult zebra finches have the capacity to form memories of specific songs after hearing them for only a few hours (Stripling *et al.*, 2003). Therefore, it still remains to be determined to what extent social interactions beyond sound exposure affect the representation of call stimuli in NCM.

In our study, experience-induced plasticity of the representation of call stimuli appears to affect in different ways the ability of neurons in NCM to discriminate between call stimuli. More cells showed highly selective responses (d' value $> +1$) for familiar call stimuli, i.e. the mate's call or the call of the familiar male, over the call of the unfamiliar male, in mated than in control females. However, more neurons were also found to selectively respond to the unfamiliar call stimulus (d' value < -1). This differs from numerous studies that have focused on learning-induced plasticity in the auditory cortex in adult mammals. Typically, enlarged cortical representations of relevant stimuli have been observed after extensive training of animals (reviewed in Weinberger, 2004). However, other kinds of learning-induced changes in neuronal activity in the mammalian central auditory system have been described. Discriminative training can induce increased neural responses to the frequency of the tone used as the reinforced stimulus at the expense of other frequencies, including that of the unreinforced stimulus (Edeline *et al.*, 1993; Edeline, 1998). In other studies, sensory responses to irrelevant stimuli were depressed (Fritz *et al.*, 2003, 2005). Also, a recent investigation of the experience-induced plasticity using a natural sound has reported an increased inhibition in spectral bands surrounding the relevant stimulus (Galindo-Leon *et al.*, 2009). There may therefore be different

ways to make the representation of relevant acoustic stimuli more salient.

In songbirds, previous studies have presented evidence that auditory neurons may undergo different forms of experience- or learning-induced plasticity. Training a European starling (*Sturnus vulgaris*) to recognize conspecific songs leads neurons in the caudomedial mesopallium to preferentially respond to these songs (Gentner & Margoliash, 2003; Jeanne *et al.*, 2011). In contrast, neurons in the NCM respond more strongly to unfamiliar songs than to learned songs (Thompson & Gentner, 2010). Another study, which used simple tone stimuli to explore the auditory response properties of NCM neurons, has shown that social experience can either broaden or narrow the tuning of NCM neurons (Terleph *et al.*, 2008). The properties of neurons in the auditory forebrain of songbirds are labile and may be modulated in different directions by recent experience. Our results however failed to reveal an experience-induced weakening of responses to the learned stimuli as reported in Thompson & Gentner, 2010. Many factors could influence the type of plastic changes that occur in the NCM and this discrepancy could reflect a certain number of experimental differences. The auditory properties of NCM neurons and the manner in which social conditions affect them have been reported to differ between zebra finches and canaries (*Serinus canaria*; Terleph *et al.*, 2007, 2008). The type of natural vocalization under consideration (call vs. song) may also differentially affect the auditory response pattern of NCM neurons. Calls and songs differ in their duration, structure and acoustic richness. In starlings, auditory responses even depend on the level of identity transmitted by the vocalization, i.e. species, population or individual identity (George *et al.*, 2008). In addition, plasticity-related changes may vary with the subregion of the NCM in which responses are recorded (Chew *et al.*, 1995). In Thompson & Gentner (2010), a weakening of the response to learned songs was observed in the ventral NCM and not in the dorsal NCM where we recorded call-induced responses.

One interesting feature of NCM neurons is the marked habituation that results from repeated presentation of the same auditory stimulus, generally a song (Chew *et al.*, 1995, 1996; Stripling *et al.*, 1997, 2001; Phan *et al.*, 2006), but sometimes a call (Chew *et al.*, 1995; Beckers & Gahr, 2010). Habituation to conspecific songs outlasts habituation to heterospecific songs and the long-term habituation of responses is specific to individual songs or calls used as stimuli (Mello *et al.*, 1992; Chew *et al.*, 1995; Stripling *et al.*, 2001; Beckers & Gahr, 2010). Given these findings, the NCM has been viewed as participating in discrimination and memory of the vocalizations of individual conspecifics (Chew *et al.*, 1995; Hahnloser & Kotowicz, 2010). Also, the rate of habituation of NCM auditory responses in male zebra finches differed between a novel song stimulus and a song heard early in development, the tutor's song; it was higher for novel than for familiar song stimuli (Phan *et al.*, 2006). Unlike this previous study, we did not find any difference in time course of changing response among call stimuli varying in familiarity. Beyond the use of different methods to measure neuronal activity (number of spikes in the present study vs. root-mean-square in the previous study), one can assume that the number of call presentations was insufficient to reveal difference in the habituation rate between call stimuli. Also, call stimuli were played much faster than song stimuli in the previous study: they were presented once per second while two song presentations were separated by an 8-s interval. Consequently, the decline over time of auditory response with call repetition could reflect another process than that described in Phan *et al.*, 2006. It could result from a short-term adaptation as shown in a recent study (Beckers & Gahr, 2010). In the auditory system of mammals, this phenomenon is viewed as a

mechanism that mainly contributes to auditory change detection (Ulanovsky *et al.*, 2003, 2004; Malmierca *et al.*, 2009) and could enable animals to distinguish frequently recurring sound stimuli from other events in their auditory scene.

A recent study has investigated the neural substrate of the female preference for the mate's song over an unfamiliar song, by measuring activity-dependent expression of the immediate-early gene ZENK in the NCM (Woolley & Doupe, 2008). More ZENK-expressing cells were found in the NCM of mated females that had heard an unfamiliar song than in the NCM of mated females that had heard their mate's song. In our study in mated females, single-unit responses to the unfamiliar call were weaker in their strength than those to the mate's call; the question that thus arises is how to reconcile the results of these two studies that addressed the same issue but used two distinct zebra finch vocalizations. Molecular events including immediate-early gene expression are generally viewed as underlying lasting changes in the electrophysiological properties of neurons and essential for different aspects of synaptic plasticity (Jones *et al.*, 2001; Davis *et al.*, 2003). However, no studies to date have established the role played by changes in the expression of the gene ZENK in modifying the properties of NCM cells (Moorman *et al.*, 2011). Future studies combining the measurement of both electrophysiological activity and of ZENK expression are necessary to address this issue. In agreement with the study by Woolley & Doupe (2008), our results suggest that the NCM specifically differentiates between 'unfamiliar' and 'familiar' categories, with the 'familiar' category referring here to calls produced both by the mate and by a familiar conspecific male. Surprisingly, the response strength did not differ between the mate's call and the call of the familiar male in mated females, despite a great difference in the duration of the period of social contacts involving these two calls. Females had been kept with their mate for ~4 months whereas they had been allowed to interact with the familiar male for at least 3 days. However, evaluating the degree of selectivity of the responses, a proportion of recording sites in both awake and anesthetized mated females was found to exhibit a clear preference for the mate's call over the familiar call, or, in a few cases, the opposite pattern. In contrast, very few cells in anesthetized control females showed a bias in their response toward one of these two call stimuli. Social experience with the call of individuals may therefore affect the degree to which neurons discriminated between these calls. Experience-dependent plasticity in the NCM could thus function as a contrast enhancer for responses. Taken together, results of the present study provide additional evidence that the NCM is involved in coding of individual specific vocalizations. In a highly social songbird species such as the zebra finch, in which the recognition of familiar conspecifics is essential for social behaviour, the NCM could therefore be involved in social perception.

Acknowledgements

This work supported by both the ANR grant BLAN06 0293 'Bird's Voice' and the ANR grant 11BSV7 'Acoustic partnership'. F.M. was supported by a doctoral fellowship from the French Research Ministry. We thank Pascale Veyrac and Nathalie Samson for animal care.

Abbreviations

AMU, multiunit activity; d' , psychophysical metric which estimates the discriminability between two stimuli; MI, mutual information; NCM, caudomedial nidopallium; PSTH, peristimulus time histogram; RS, response strength.

References

- Beckers, G.J.L. & Gahr, M. (2010) Neural processing of short-term recurrence in songbird vocal communication. *PLoS One*, **5**, e11129.
- Bee, M.A., Micheyl, C., Oxenham, A.J. & Klump, G.M. (2010) Neural adaptation to tone sequences in the songbird forebrain: patterns, determinants, and relation to the build-up of auditory streaming. *J. Comp. Physiol. A.*, **196**, 543–557.
- Bolhuis, J.J. & Gahr, M. (2006) Neural mechanisms of birdsong memory. *Nat. Rev. Neurosci.*, **7**, 347–357.
- Bolhuis, J.J., Zijlstra, G.G., den Boer-Visser, A.M. & Van Der Zee, E.A. (2000) Localized neuronal activation in the zebra finch brain is related to the strength of song learning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 2282–2285.
- Bolhuis, J.J., Hetebrij, E., Den Boer-Visser, A.M., De Groot, J.H. & Zijlstra, G.G. (2001) Localized immediate early gene expression related to the strength of song learning in socially reared zebra finches. *Eur. J. Neurosci.*, **13**, 2165–2170.
- Cardin, J.A. & Schmidt, M.F. (2003) Song system auditory responses are stable and highly tuned during sedation, rapidly modulated and unselective during wakefulness, and suppressed by arousal. *J. Neurophysiol.*, **90**, 2884–2899.
- Cardin, J.A. & Schmidt, M.F. (2004) Auditory responses in multiple sensorimotor song system nuclei are co-modulated by behavioral state. *J. Neurophysiol.*, **91**, 2148–2163.
- Chew, S.J., Mello, C., Nottebohm, F., Jarvis, E. & Vicario, D.S. (1995) Decrements in auditory responses to a repeated conspecific song are long-lasting and require two periods of protein synthesis in the songbird forebrain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 3406–3410.
- Chew, S.J., Vicario, D.S. & Nottebohm, F. (1996) A large-capacity memory system that recognizes the calls and songs of individual birds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 1950–1955.
- Clayton, N.S. (1988) Song discrimination learning in zebra finches. *Anim. Behav.*, **36**, 1016–1024.
- Davis, S., Bozon, B. & Laroche, S. (2003) How necessary is the activation of the immediate early gene *zif 268* in synaptic plasticity and learning? *Behav. Brain Res.*, **142**, 17–30.
- Edeline, J.M. (1998) Learning-induced physiological plasticity in the thalamocortical sensory systems: a critical evaluation of receptive field plasticity, map changes and their potential mechanisms. *Prog. Neurobiol.*, **57**, 165–224.
- Edeline, J.M., Pham, P. & Weinberger, N.M. (1993) Rapid development of learning-induced receptive field plasticity in the auditory cortex. *Behav. Neurosci.*, **107**, 539–557.
- Fritz, J., Shamma, S., Elhilali, M. & Klein, D. (2003) Rapid task-related plasticity of spectrotemporal receptive fields in primary auditory cortex. *Nat. Neurosci.*, **6**, 1216–1223.
- Fritz, J.B., Elhilali, M. & Shamma, S.A. (2005) Differential dynamic plasticity of A1 receptive fields during multiple spectral tasks. *J. Neurosci.*, **25**, 7623–7635.
- Galindo-Leon, E.E., Lin, F.G. & Liu, R.C. (2009) Inhibitory plasticity in a lateral band improves cortical detection of natural vocalizations. *Neuron*, **62**, 705–716.
- Gentner, T.Q. & Margoliash, D. (2003) Neuronal populations and single cells representing learned auditory objects. *Nature*, **424**, 669–674.
- George, I., Cousillas, H., Richard, J.P. & Hausberger, M. (2008) A potential neural substrate for processing functional classes of complex acoustic signals. *PLoS One*, **3**, e2203.
- Green, D.M. & Swets, J.A. (1966). *Signal Detection Theory and Psychophysics*. Wiley, New York, NY.
- Hahnloser, R.H. & Kotowicz, A. (2010) Auditory representations and memory in birdsong learning. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **20**, 332–339.
- Huetz, C., Del Negro, C., Lebas, N., Tarroux, P. & Edeline, J.M. (2006) Contribution of spike-timing to the information transmitted by HVC neurons. *Eur. J. Neurosci.*, **24**, 1091–1108.
- Huetz, C., Philibert, B. & Edeline, J.M. (2009) A spike-timing code for discriminating conspecific vocalizations in the thalamocortical system of anesthetized and awake guinea pigs. *J. Neurosci.*, **14**, 334–350.
- Jeanne, J.M., Thompson, J.V., Sharpee, T.O. & Gentner, T.Q. (2011) Emergence of learned categorical representations within an auditory forebrain circuit. *J. Neurosci.*, **31**, 2595–2606.
- Jones, M.W., Errington, M.L., French, P.J., Fine, A., Bliss, T.V.P., Garel, S., Charnay, P., Bozon, B., Laroche, S. & Davis, S. (2001) A requirement for the immediate early gene *Zif268* in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat. Neurosci.*, **4**, 289–296.
- Liu, R.C. & Schreiner, C.E. (2007) Auditory cortical detection and discrimination correlates with communicative significance. *PLoS Biol.*, **5**, e173.
- Malmierca, M.S., Cristaudo, S., Perez-Gonzalez, D. & Covey, E. (2009) Stimulus-specific adaptation in the inferior colliculus of the anesthetized rat. *J. Neurosci.*, **29**, 5483–5493.
- Mello, C.V., Vicario, D.S. & Clayton, D.F. (1992) Song presentation induces gene expression in the songbird forebrain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 6818–6822.
- Mello, C.V., Nottebohm, F. & Clayton, D.F. (1995) Repeated exposure to one song leads to a rapid and persistent decline in an immediate early gene's response to that song in zebra finch telencephalon. *J. Neurosci.*, **15**, 6919–6925.
- Miller, D.B. (1979a) The acoustic basis of mate recognition by female zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Anim. Behav.*, **27**, 376–380.
- Miller, D.B. (1979b) Long-term recognition of father's song by female zebra finches. *Nature*, **280**, 389–391.
- Moorman, S., Mello, C.V. & Bolhuis, J.J. (2011) From songs to synapses: molecular mechanisms of birdsong memory: molecular mechanisms of auditory learning in songbirds involve immediate early genes, including *zenk* and *arc*, the ERK/MAPK pathway and synapsins. *BioEssays*, **33**, 377–385.
- Nealen, P.M. & Schmidt, M.F. (2006) Distributed and selective auditory representation of song repertoires in the avian song system. *J. Neurophysiol.*, **96**, 3433–3447.
- Nieder, A. & Klump, G.M. (1999) Adjustable frequency selectivity of auditory forebrain neurons recorded in a freely moving songbird via radiotelemetry. *Hear. Res.*, **127**, 41–54.
- Phan, M.L., Pytte, C.L. & Vicario, D.S. (2006) Early auditory experience generates long-lasting memories that may subserve vocal learning in songbirds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 1088–1093.
- Pinaud, R. & Terleph, T.A. (2008) A songbird forebrain area potentially involved in auditory discrimination and memory formation. *J. Biosci.*, **33**, 145–155.
- Ribeiro, S., Cecchi, G.A., Magnasco, M.O. & Mello, C.V. (1998) Toward a song code: evidence for a syllabic representation in the canary brain. *Neuron*, **21**, 359–371.
- Schmidt, M.F. & Konishi, M. (1998) Gating of auditory responses in the vocal control system of awake songbirds. *Nat. Neurosci.*, **1**, 513–518.
- Schnupp, J.W.H., Hall, T.M., Kokelaar, F. & Ahmed, B. (2006) Plasticity of temporal pattern codes for vocalization stimuli in primary auditory cortex. *J. Neurosci.*, **26**, 4785–4795.
- Schregardus, D.S., Pieneman, A.W., Ter Maat, A., Jansen, R.F., Brouwer, T.J. & Gahr, M. (2006) A lightweight telemetry system for recording neuronal activity in freely behaving small animals. *J. Neurosci. Methods*, **155**, 62–71.
- Simpson, H.B. & Vicario, D.S. (1990) Brain pathways for learned and unlearned vocalizations differ in zebra finches. *J. Neurosci.*, **10**, 1541–1556.
- Stripling, R., Volman, S.F. & Clayton, D.F. (1997) Response modulation in the zebra finch neostriatum: relationship to nuclear gene regulation. *J. Neurosci.*, **17**, 3883–3893.
- Stripling, R., Kruse, A.A. & Clayton, D.F. (2001) Development of song responses in the zebra finch caudomedial neostriatum: role of genomic and electrophysiological activities. *J. Neurobiol.*, **48**, 163–180.
- Stripling, R., Milewski, L., Kruse, A.A. & Clayton, D.F. (2003) Rapidly learned song-discrimination without behavioral reinforcement in adult male zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Neurobiol. Learn. Mem.*, **79**, 41–50.
- Terleph, T.A., Mello, C.V. & Vicario, D.S. (2006) Auditory topography and temporal response dynamics of canary caudal telencephalon. *J. Neurobiol.*, **66**, 281–292.
- Terleph, T.A., Mello, C.V. & Vicario, D.S. (2007) Species differences in auditory processing dynamics in songbird auditory telencephalon. *Dev. Neurobiol.*, **67**, 1498–1510.
- Terleph, T.A., Lu, K. & Vicario, D.S. (2008) Response properties of the auditory telencephalon in songbirds change with recent experience and season. *PLoS One*, **3**, e2854.
- Theunissen, F.E. & Doupe, A.J. (1998) Temporal and spectral sensitivity of complex auditory neurons in the nucleus HVC of male zebra finches. *J. Neurosci.*, **18**, 3786–3802.
- Theunissen, F.E. & Shaevitz, S.S. (2006) Auditory processing of vocal sounds in birds. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **16**, 400–407.
- Thompson, J.V. & Gentner, T.Q. (2010) Song recognition learning and stimulus-specific weakening of neural responses in the avian auditory forebrain. *J. Neurophysiol.*, **103**, 1785–1797.
- Ulanovsky, N., Las, L. & Nelken, I. (2003) Processing of low-probability sounds by cortical neurons. *Nat. Neurosci.*, **6**, 391–398.
- Ulanovsky, N., Las, L., Farkas, D. & Nelken, I. (2004) Multiple time scales of adaptation in auditory cortex neurons. *J. Neurosci.*, **24**, 10440–10453.
- Van Meir, V., Boumans, T., De Groof, G., Van Audekerke, J., Smolders, A., Scheunders, P., Sijbers, J., Verhoye, M., Balthazart, J. & Van der Linden, A. (2005) Spatiotemporal properties of the BOLD response in the songbird's

- auditory circuit during a variety of listening tasks. *Neuroimage*, **25**, 1242–1255.
- Vicario, D.S., Naqvi, N.H. & Raksin, J.N. (2001) Sex differences in discrimination of vocal communication signals in a songbird. *Anim. Behav.*, **61**, 805–817.
- Vignal, C. & Mathevon, N. (2011) Effect of acoustic cue modifications on evoked vocal response to calls in zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *J. Comp. Psychol.*, **125**, 150–161.
- Vignal, C., Mathevon, N. & Mottin, S. (2004) Audience drives male songbird response to mate's voice. *Nature*, **430**, 448–451.
- Vignal, C., Mathevon, N. & Mottin, S. (2008) Mate recognition by female zebra finch: analysis of individuality in male call and first investigations on female decoding process. *Behav. Processes*, **77**, 191–198.
- Weinberger, N.M. (2004) Specific long-term memory traces in primary auditory cortex. *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 279–290.
- Woolley, S.C. & Doupe, A.J. (2008) Social context induced song variation affects female behavior and gene expression. *PLoS Biol.*, **6**, e62.
- Zann, R. (1984) Structural variation in the zebra finch distance call. *Z. Tierpsychol.*, **66**, 328–345.
- Zann, R. (1996). *The Zebra Finch: A Synthesis of Field and Laboratory Studies*. Oxford U.P., Oxford.

3.3.2 Réponses aux cris de femelles

3.3.2.1 Introduction

Les résultats concernant les cris de mâles ayant montré que les neurones du NCM sont capables de discriminer entre des vocalisations de mâles connus et inconnus, nous avons alors voulu savoir si, les réponses des neurones différaient entre le cri d'une femelle familière et celui d'une femelle inconnue.

3.3.2.2 Réponses auditives chez les femelles vigiles

En utilisant le système de télémétrie miniature, les réponses de 14 sites ont été enregistrées dans le NCM de 8 femelles en couple. Comme le montrent les figures 6A et 6B, la présentation d'un cri de distance de femelle, qu'il soit connu ou inconnu, provoque une forte augmentation du taux de décharge des neurones du NCM. Mais, sur la base du Z-Score, cette augmentation est significativement plus forte lors de la diffusion du cri de la femelle familière que lors de la présentation du cri de la femelle inconnue ($F_{1,13}=4,53$; $p=0,04$)(fig. 6C). Comme on peut le voir sur la figure 6D, cela est dû au fait que plus de cellules ont de fortes valeurs de Z-Score pour le cri de la femelle familière que pour le cri de la femelle inconnue.

Afin de savoir si la population de neurones enregistrée montrait une sélectivité en faveur des vocalisations connues par rapport aux vocalisations inconnues nous avons calculé un index de sélectivité, noté d' , pour chaque site d'enregistrement (voir chapitre 2, Techniques et méthodes générales). Les résultats indiquent une sélectivité moyenne en faveur du cri de distance de la familière par rapport au cri de l'inconnue ($d' \pm$ écart-type, $1,39 \pm 0,63$). Plus en détail, cette sélectivité en faveur du cri de la femelle familière est due au fait que 7 sites d'enregistrements multi-unitaires sur 14 affichent un $d' > 1$, alors que seulement 4 sites révèlent un $d' < -1$, soit une sélectivité pour le cri de la femelle inconnue (fig. 6E).

Les neurones du NCM montrent une diminution de la force des réponses lors de la présentation répétée de stimuli auditifs (pour revues, Mello, 2004; Mello et al., 2004). Nous avons également observé un tel phénomène d'habituation lors de la présentation répétée de cris de femelles, qu'elles soient familières ou inconnues. Si l'on compare les taux de décharge entre la 1^{ère} présentation et les 5 dernières présentations (45 à 50) nous observons une forte diminution des décharges neuronales (cri 1 Vs. cris 45-50, effet répétition, $F_{1,12}=36,85$; $p < 0,0001$). Une étude a montré que cette diminution (ou habituation) était plus forte pour des chants qui n'avaient jamais été entendus que pour des chants connus (Phan et al., 2006). Toutefois, nos analyses statistiques ne révèlent pas d'interaction entre l'effet répétition et l'effet type de cri ($F_{1,12}=0,17$; $p=0,69$). De ce fait la différence dans le Z-Score moyen entre le cri de la femelle familière et celui de la femelle inconnue n'est pas due à une différence dans le taux d'habituation entre les deux cris.

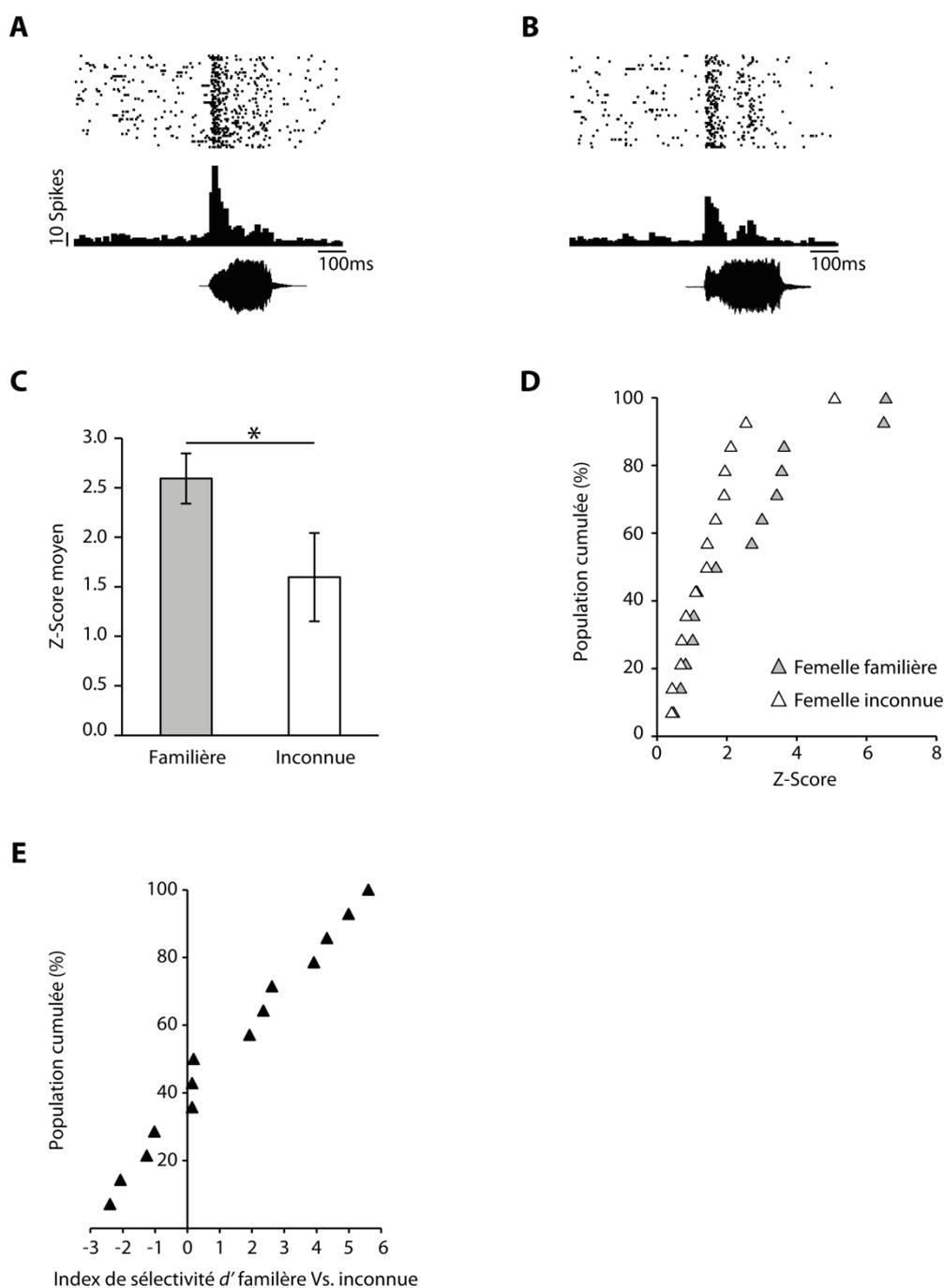


Figure 6 : Exemple de réponse d'une cellule aux cris de la femelle familière (A) et d'une femelle inconnue (B) chez les femelles vigiles. La partie supérieure représente les rasters, chaque point correspond à un potentiel d'action et chaque ligne à une présentation du cri concerné, la partie inférieure représente le péri-stimulus-histogramme (PSTH), le nombre total de PA par bin de 10ms, l'enveloppe des cris de femelles indique le début et la fin des vocalisations. La cellule présentée répond plus au cri de la femelle familière qu'à celui de la femelle inconnue. On retrouve cette préférence sur l'ensemble de la population enregistrée (C). Comme on le voit en (D), une partie des neurones affichent des réponses (Z-Score) plus grandes pour la femelle familière. De plus, certains neurones se montrent sélectifs pour le cri de la femelle familière ($d' > 1$)(E).

3.3.2.3 Chez les femelles anesthésiées

Les réponses aux vocalisations de 64 cellules bien différenciées ont été enregistrées chez les femelles en couple, et de 56 cellules chez les femelles contrôles. Dans la très grande majorité des cas, la présentation de cris de femelle se traduit par une forte augmentation du taux de décharge des neurones (fig. 7A, 7B). Nos résultats montrent que chez les femelles en couple, la présentation du cri de la femelle familière induit des réponses significativement plus fortes que celui de la femelle inconnue ($F_{1,63}=7,73$; $p=0,007$)(fig. 7C). En revanche, chez les femelles contrôles, les neurones du NCM répondent avec autant de force quels que soient les cris de distance de femelles présentés ($F_{1,55}=1,14$; $p=0,29$)(fig. 7D). Ces résultats suggèrent donc que l'augmentation des réponses observée chez les femelles en couple ne repose pas sur la structure acoustique du cri de distance, mais, plutôt sur le degré de familiarité.

Afin de déterminer à quoi était due cette augmentation des réponses pour le cri de la femelle familière, nous avons représenté les distributions cumulées des valeurs de Z-Score chez les femelles en couple et contrôles (fig. 7E, 7F). Chez les femelles en couple, on remarque un décalage significatif vers la droite de l'ensemble de la distribution des valeurs de Z-Score pour le cri de la femelle familière par rapport à celle pour le cri de la femelle inconnue (intervalles de 0,2 ; $\chi^2=29,64$; $dl=14$; $p=0,008$), indiquant que l'ensemble de la population de cellules répond plus fortement au cri de la femelle familière qu'au cri de la femelle inconnue. En revanche si l'on regarde les distributions chez les femelles contrôles, nous ne voyons pas une telle différence dans les distributions aux cris de femelles (intervalles de 0,2 ; $\chi^2=17,88$; $dl=14$; $p=0,21$).

Nous avons également comparé les valeurs des Z-Scores pour le cri de distance de la femelle familière et de la femelle inconnue entre les femelles en couple et contrôles. Bien que chez les femelles en couple le cri de la femelle familière entraîne des réponses plus fortes de la part des neurones, nous n'observons aucune différence significative entre les valeurs de Z-Scores pour le cri de la familière entre les deux groupes de femelles (test t, échantillon indépendants ; $t_{118}=1,75$; $p=0,08$). Aucune différence n'est pas non plus observée entre les valeurs de Z-Scores pour le cri de la femelle inconnue entre les femelles en couple et contrôles ($t_{118}=0,73$; $p=0,47$).

En moyenne, les neurones chez les femelles vivant en couple ne se montrent pas plus sélectifs pour le cri de la femelle familière que pour celui de la femelle inconnue et cela n'est pas différent de ce que nous pouvons mesurer chez les femelles contrôles ($d' \pm$ écart-type, femelles en couple Vs. femelle contrôles, $0,25 \pm 0,08$ Vs. $0,14 \pm 0,05$, $t_{1,118}=-1,12$; $p=0,27$). En revanche, nous remarquons que la distribution des d' est plus étalée chez les femelles en couple que chez les femelles contrôles (fig. 8). En effet, chez les femelles en couple il y a plus de cellules sélectives, c'est-à-dire avec un $d' < -1$ ou > 1 (7/57 chez les femelles en couple Vs. 1 sur 68 chez les contrôles, $\chi^2=37,78$; $p < 0,0001$).

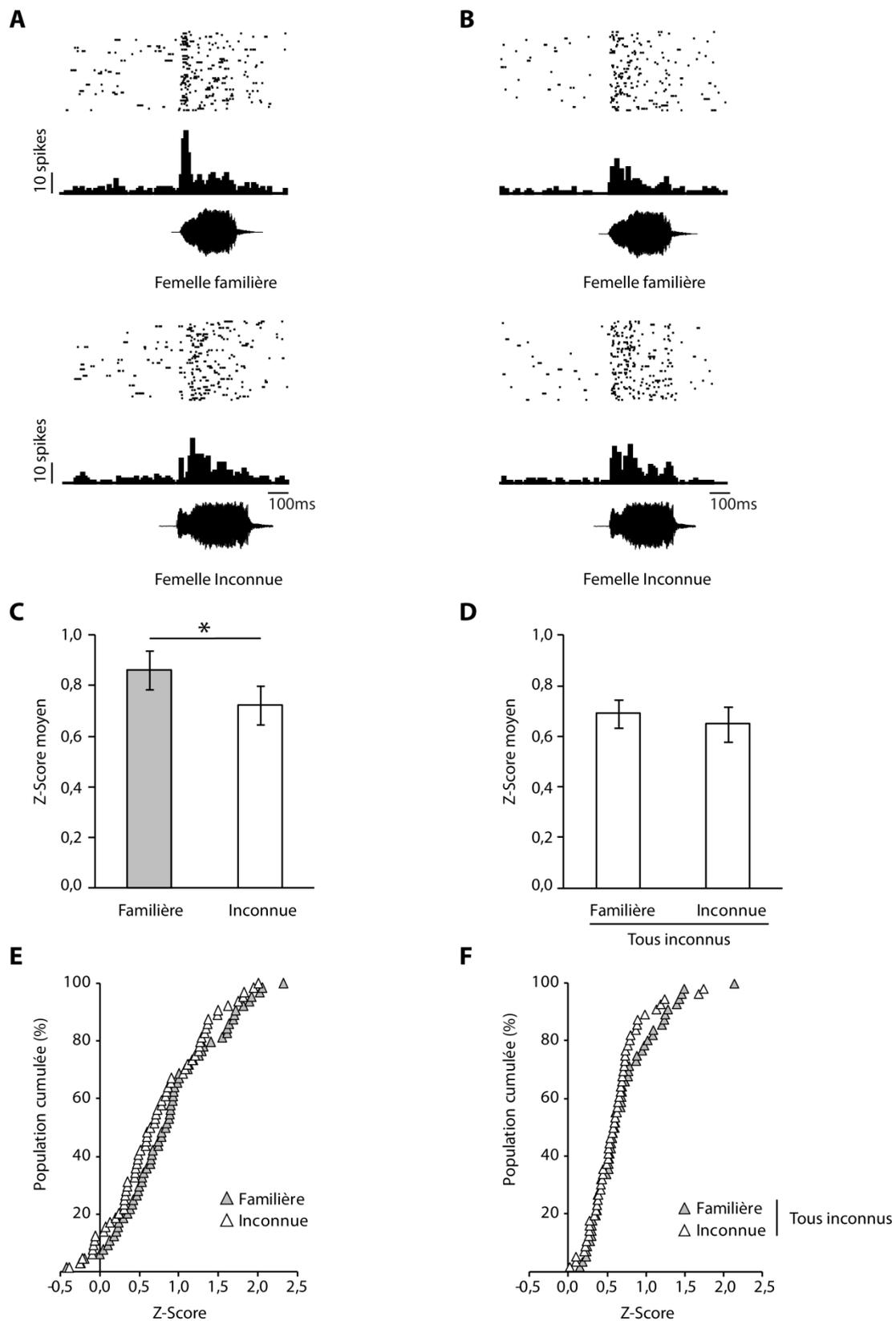


Figure 7 : Exemple de réponses de neurones du NCM chez les femelles anesthésiées (A) aux cris d’une femelle familière (en haut) et d’une femelle inconnue (en bas). (B) réponse d’une cellule aux mêmes vocalisations chez une femelle contrôle qui ne les jamais entendues auparavant. Histogrammes des valeurs moyennes des Z-Score représentant la force des réponses aux cris de femelles familières (en gris) et d’inconnues (en blanc), chez les femelles en couple (C) et contrôles (D). Les distributions des valeurs de Z-Score pour chacune des vocalisations de femelle sont représentées chez les femelles en couple (E) et chez les femelles contrôles (F).

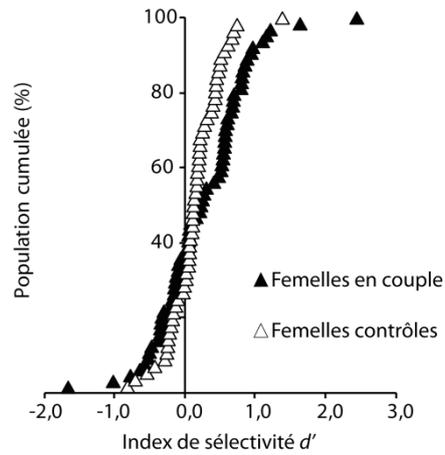


Figure 8 : Les distributions cumulées des valeurs de d' montrent que le degré de sélectivité (cri de la femelle familière contre celui de la femelle inconnue) ne diffère pas entre les femelles en couple (en noir) et contrôles (en blanc). Le nombre de cellule sélectives ($d' > 1$ ou < -1) est plus grand chez les femelles en couple que chez les contrôles.

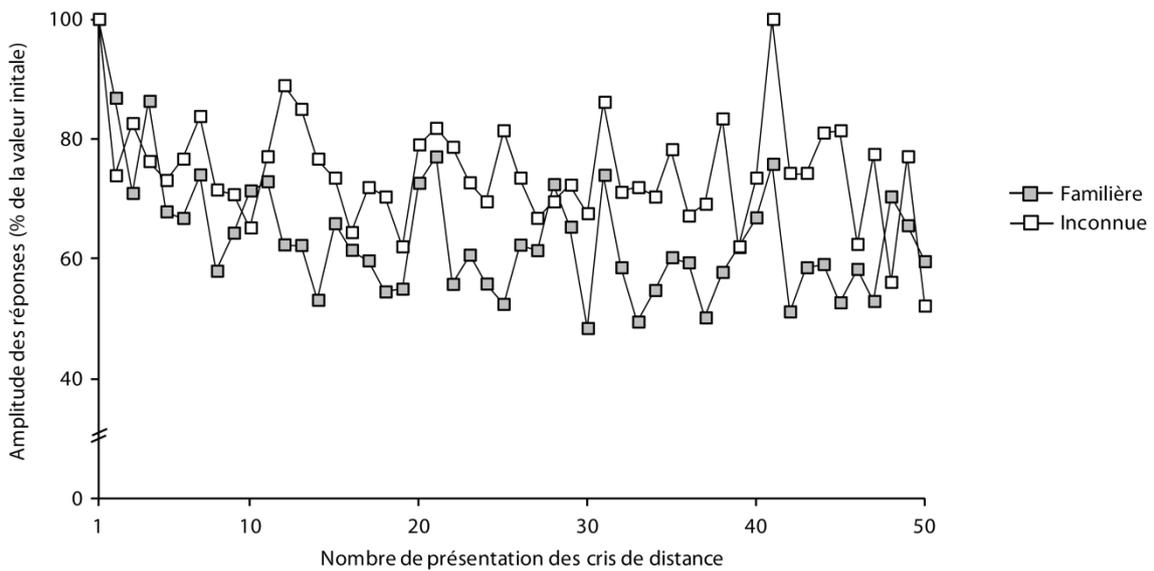


Figure 9 : Taux d'habituation exprimé en pourcentage de la 1ère réponse sur les 50 présentations des cris de femelles familières (en gris) et d'inconnues (en blanc) chez les femelles en couple. On peut voir un rapide déclin des réponses répétition par répétition pour chacun des cris de femelle. Il est à noter que les analyses statistiques ont été réalisées sur les taux d'émission des potentiels d'action et non sur les pourcentages.

Une des caractéristiques principales des neurones du NCM est la rapide atténuation de leurs réponses au fur et à mesure de la répétition du même signal acoustique (Chew et al., 1995; Stripling et al., 1997). Lors de nos enregistrements, nous avons observé une telle diminution de l'amplitude des réponses (fig. 9). La comparaison des fréquences de décharge entre la 1ère et les 5 dernières répétitions des cris de femelles indiquent une diminution significative du taux de réponse chez les femelles en couple comme chez les femelles contrôles (Femelles en couple, $F_{1,63}=18,23$; $p<0,0001$; Femelles contrôles, $F_{1,55}=31,85$; $p<0,0001$). Mais le taux d'habituation ne diffère pas entre les cris de distance connus et inconnus que ce soit chez les femelles en couple (effet répétition X effet type de cri, $F_{1,63}=1,63$; $p=0,21$) ou les femelles contrôles ($F_{1,55}=0,01$; $p=0,92$). De ce fait, la différence observée dans l'amplitude des réponses (Z-score) chez les femelles en couple n'est pas due à une différence dans le taux d'habituation entre les deux cris.

3.3.2.4 Comparaisons des réponses aux vocalisations de mâles et femelles

D'un point de vue comportemental, les diamants mandarins sont capables de discriminer entre les cris de mâles et de femelles. Les femelles produisent plus de cris en réponse à la diffusion de cris de femelles qu'aux cris de mâles (Vicario et al., 2001; Gobes et al., 2009). Aussi nous avons voulu savoir si les réponses auditives permettaient de distinguer les cris des mâles des cris de femelles. Le cri du mâle partenaire n'a pas été pris en compte. Nos comparaisons ont été réalisées exclusivement sur les cris de mâles et femelles familiers ainsi qu'inconnus.

La figure 10 montre des exemples de réponses aux cris de distance des mâles (familier et inconnu) et des femelles (familiale et inconnue) chez une femelle vigile, une femelle en couple anesthésiée et une femelle contrôle. Comme on peut le voir, la présentation de cris de mâles comme celle de cris de femelles peut s'accompagner d'un pic d'augmentation d'activité dont le déclin est plus ou moins rapide selon le cri considéré.

Dans un premier temps, nous avons comparé les réponses pour le cri du mâle inconnu à celles obtenues pour le cri de la femelle inconnue. Chez les femelles en couple comme chez les femelles contrôles, aucune différence significative dans la force moyenne des réponses n'est observée entre le cri du mâle inconnu et celui de la femelle inconnue (femelles en couple vigiles, $F_{1,13}=0,08$; $p=0,78$; femelles en couple anesthésiées, $F_{1,63}=0,0003$; $p=0,99$; femelles contrôles anesthésiées, $F_{1,55}=0,49$; $p=0,49$). De plus, comme nous pouvons le voir sur la figure 11A, qui représente les valeurs de Z-scores aux cris de mâles et de femelles inconnus, pour chaque groupe expérimental (femelles en couple vigile et anesthésiées, femelles contrôles anesthésiées), il y a autant de cellules de part et d'autre de la diagonale ce qui nous indique qu'il n'y a pas de préférence pour un type de cri (mâle ou femelle).

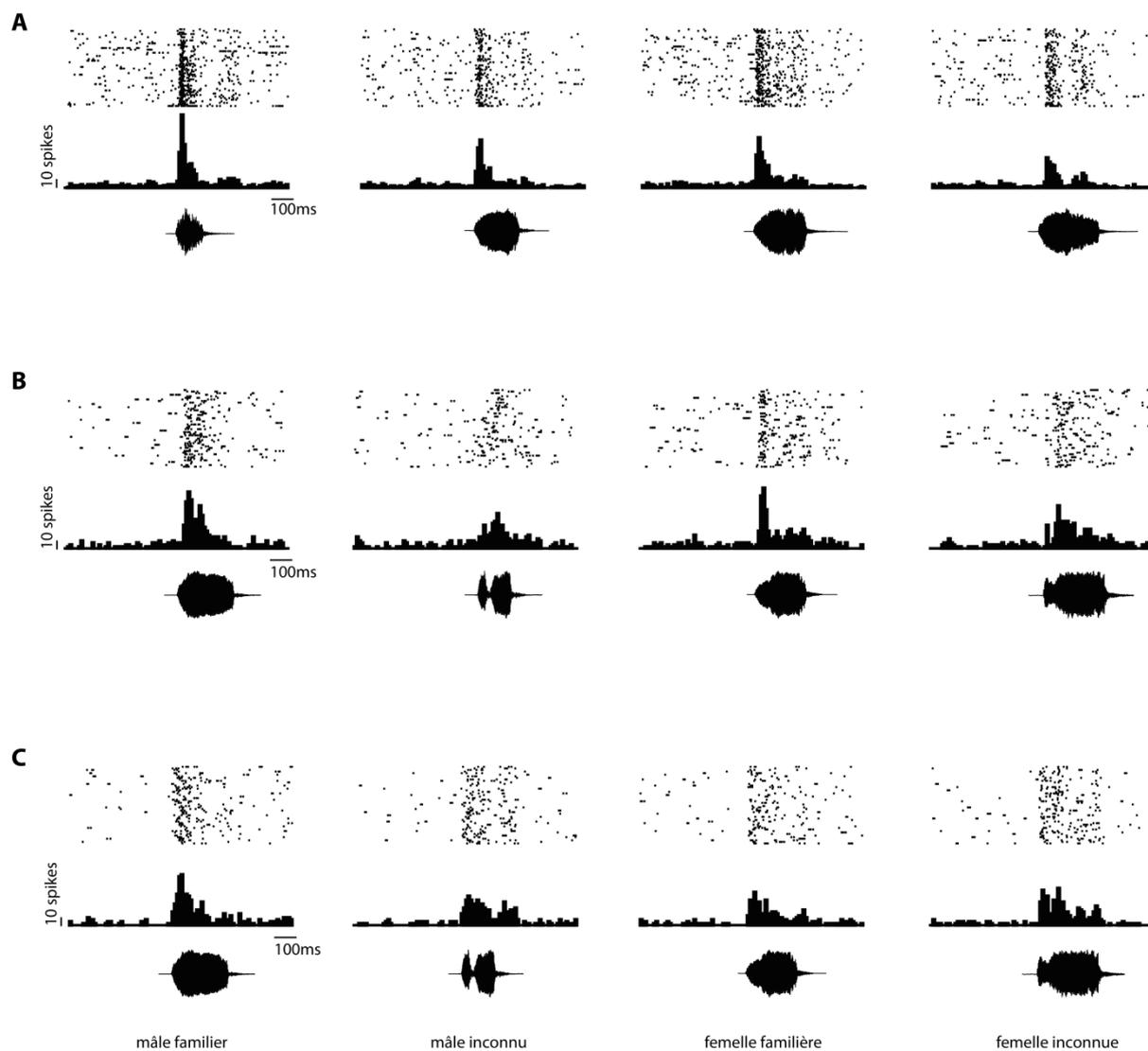


Figure 10 : Exemple de réponses obtenues lors de la présentation des cris de mâles (familier et inconnu) et de femelles (familière et inconnue) chez une femelle vigile (A), une femelle anesthésiée vivant en couple (B) et enfin une femelle anesthésiée contrôle (C).

Puis, nous avons comparé les valeurs des Z-Scores obtenues en réponses aux cris du mâle et de la femelle avec lesquels les femelles vivant en couple avaient été familiarisées. Encore une fois, les neurones ne répondent pas plus aux cris de distance du mâle familial qu'au cri de distance de la femelle familière (femelles en couple vigiles, $F_{1,13}=2,13$; $p=0,17$; femelles en couple anesthésiées, $F_{1,63}=0,77$; $p=0,38$). Chez les femelles contrôles qui n'ont pas été familiarisées avec ces cris de mâles et de femelles, les réponses sont similaires (femelles contrôles, $F_{1,55}=2,40$; $p=0,13$). À nouveau, une analyse en termes de nombre de neurones qui répond plus à un type de cri qu'à l'autre ne révèle pas de préférence (fig. 11B).

Comme nos résultats montrent un effet de la familiarité sur les réponses du NCM, nous avons voulu déterminer si chez nos femelles en couple, il existait une interaction entre le sexe des vocalisations et la familiarité, c'est-à-dire si en fonction du sexe de la vocalisation, l'effet de la familiarité était différent. Aucune interaction n'est observée entre la familiarité et le sexe des cris entendus (effet sexe des vocalisations X effet familiarité, Vigiles, $F_{1,13}=1,35$; $p=0,27$; Anesthésiées, $F_{1,63}=0,44$; $p=0,51$). Chez les femelles contrôles, étant donné qu'aucun effet de la familiarité et du sexe des vocalisations n'a été mis en évidence, nous n'observons pas non plus d'interaction entre les deux effets chez ce groupe de femelles mandarins ($F_{1,55}=0,57$; $p=0,45$).

Pourtant, la gamme de durée des cris de distance utilisés dans mon étude s'étend de 140 à 300 millisecondes et le cri de distance des femelles dure généralement plus longtemps que celui des mâles, en moyenne 292ms contre 204ms ($t=4,54$; $p<0,0001$). Aussi, nous avons analysé chez les femelles anesthésiés vivant en couple et contrôles, les réponses des neurones en fonction de la durée des cris de mâles et femelles (fig. 12A, 12B). Les résultats n'ont pas révélé de corrélation significative entre la durée des vocalisations et la force des réponses (femelles en couple et contrôles, $p>0,39$).

Ensuite, nous avons aussi cherché à savoir si les neurones du NCM se montraient plus sélectifs pour les cris de mâles que pour les cris de femelles (ou réciproquement). Chez les femelles vigiles ou anesthésiées vivant en couple nous n'observons aucune différence dans la sélectivité moyenne entre les cris de mâles et de femelles ($d' \pm$ écart-type, Vigiles, $2,48 \pm 0,74$ Vs. $1,39 \pm 0,74$; $F_{1,63}=3,82$; $p=0,07$; Anesthésiées, $0,03 \pm 0,12$ Vs. $0,25 \pm 0,08$; $F_{1,63}=2,24$; $p=0,14$). Il en est de même chez les femelles contrôles ($d' \pm$ écart-type, $-0,02 \pm 0,08$ Vs. $0,14 \pm 0,05$; $F_{1,55}=3,10$; $p=0,08$). Donc dans l'ensemble, nos résultats suggèrent que chez les femelles diamants mandarins, les neurones du NCM ne sont pas plus sélectifs pour les cris de distance du sexe opposé que pour ceux du même sexe.

Enfin, nous avons voulu déterminé si une cellule qui répond plus au cri du mâle familial qu'au cri du mâle inconnu est aussi une cellule qui répond plus au cri de la femelle familière qu'à celui de la femelle inconnue. Pour cela nous avons représenté pour chacune des cellules la valeur de l'index de sélectivité d' pour les cris de mâles par rapport à celui pour les cris de femelles.

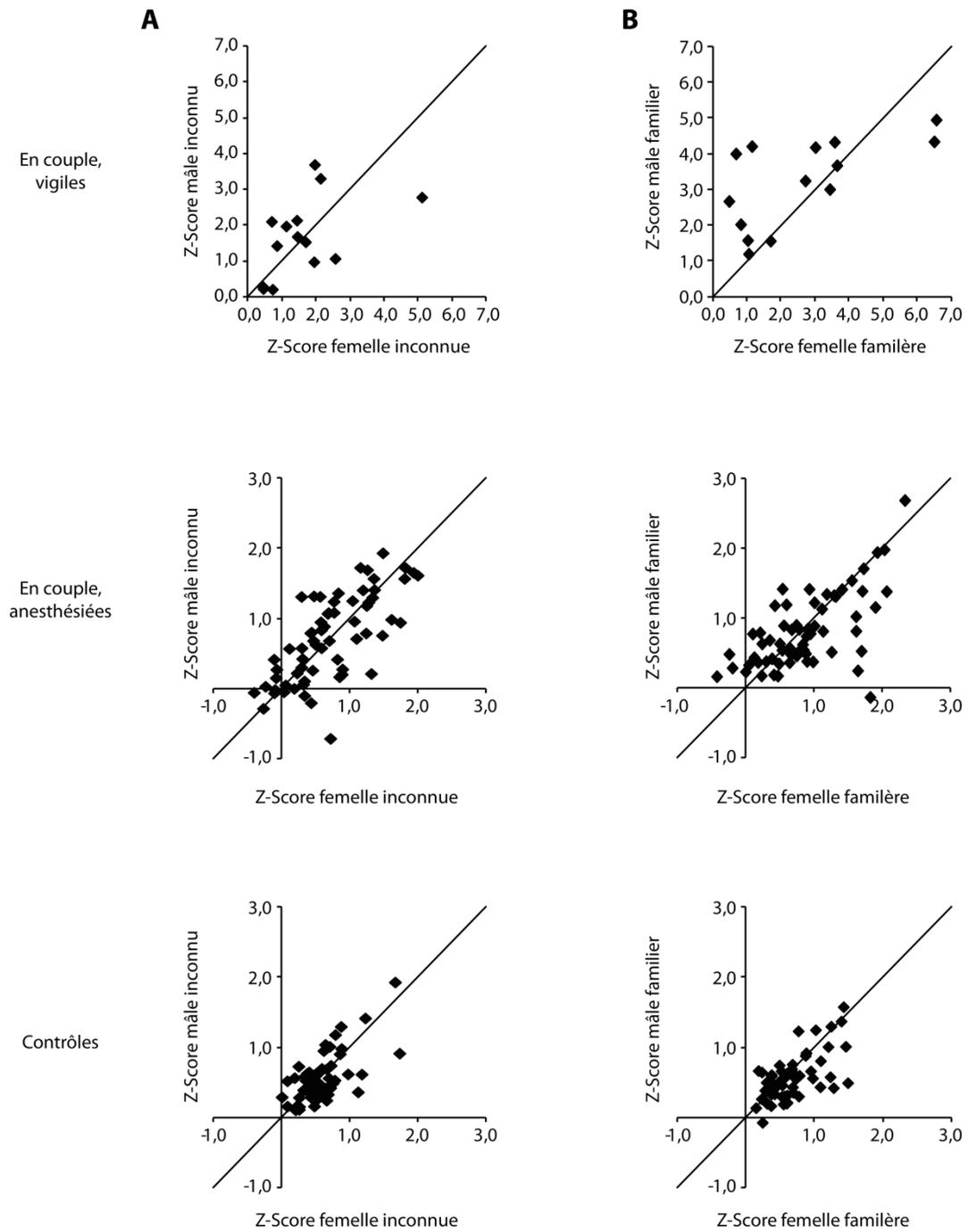


Figure 11 : Réponses des neurones au cri du mâle et de la femelle inconnu (A) ainsi que celles aux cris du mâle et de la femelle familiers (B). Un point représente un neurone. La diagonale indique que le neurone répond avec la même amplitude aux deux cris.

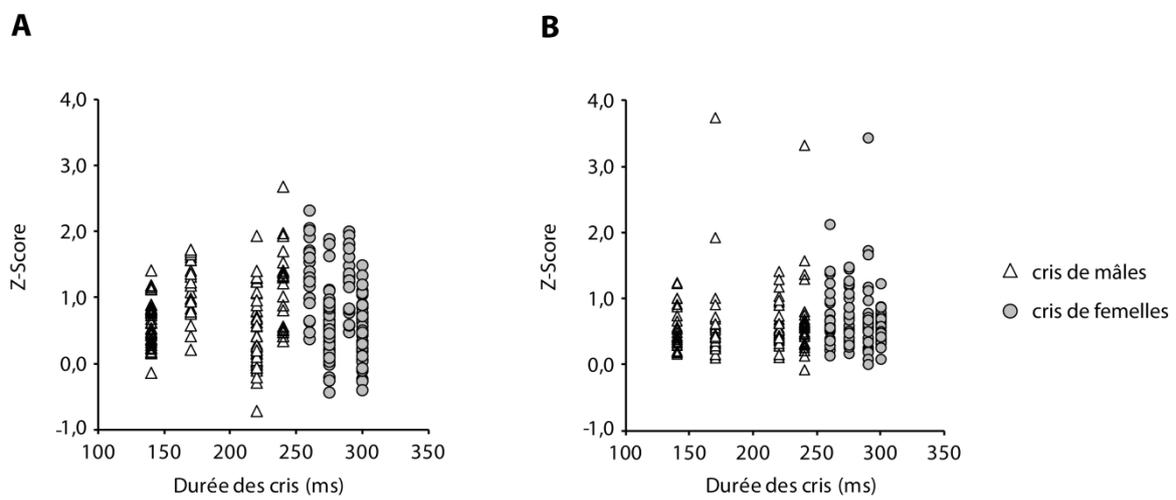


Figure 12 : Valeurs des réponses (Z-Scores) en fonction de la durée des cris de mâles (en blanc) et de femelles (en noir) chez les femelles en couple anesthésiées (A) et contrôles (B). Bien que les cris de femelles soient plus longs que ceux des mâles, les réponses des neurones sont comparables entre les deux sexes des vocalisations. Comparaison pour chacune des cellules enregistrées des valeurs des index de sélectivité entre les cris de mâles (familier contre inconnu) et les cris de femelles (familier contre inconnue). Chez les femelles vigiles (C) il y a plus d’enregistrements multi-unitaires qui se montrent sélectifs pour les cris de mâles que pour ceux de femelles. Chez les femelles anesthésiées en couple (D) et contrôles (E), il y a autant de cellules qui se montrent sélectives pour les cris de mâles que pour les cris de femelles.

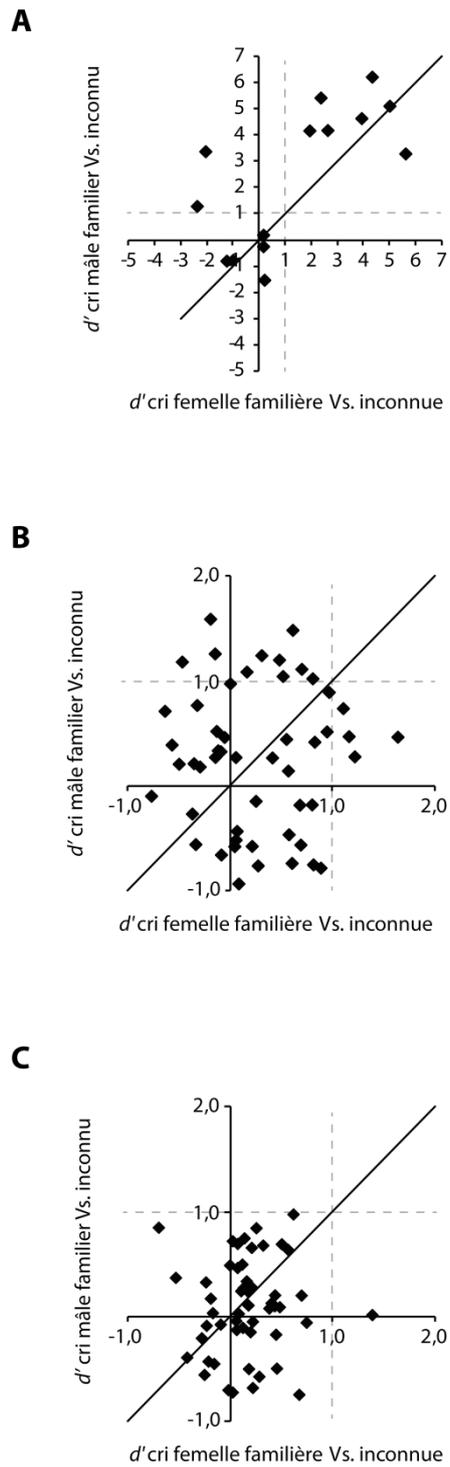


Figure 13 : Comparaison de la sélectivité des neurones entre les cris de mâles et les cris de femelles, chez les femelles vigiles (A), chez les femelles anesthésiées en couple (B) et contrôles (C). Au-delà d'une valeur de $d' > 1$ (traits en pointillés), les cellules sont considérées comme sélectives pour les cris familiaux.

Comme on peut le voir sur la figure 13, quel que soit le groupe expérimental de femelles, il y a une répartition équivalente de cellules de part et d'autre de la diagonale ce qui veut dire que dans notre population de cellules, il y a autant de cellules qui sont plus sélectives pour le cri du mâle familial que pour celui de la femelle familière, et inversement.

Néanmoins, nous pouvons voir que chez les femelles vivant en couple, les cellules qui sont sélectives pour le cri du mâle familial ne sont pas les mêmes que celles qui sont sélectives pour le cri de la femelle familière (cellules avec un d' familial Vs. inconnu >1 et d' familière Vs. inconnue <1)(fig.13A, 13B). Chez les femelles contrôles, pour lesquelles toutes les vocalisations sont inconnues, on peut voir que les cellules ne sont pas sélectives (à une exception, elles ont toutes des $d' < 1$ pour les cris de mâles et de femelles)(fig. 13C).

Nous observons également que les index de sélectivité sont plus étalés chez les femelles en couple que chez les femelles contrôles, traduisant un contraste plus grand dans la sélectivité des neurones chez les femelles en couple par rapport aux femelles contrôles.

3.3.3 Discussion des résultats obtenus chez les femelles

L'objectif de cette étude était de déterminer si chez les diamants mandarins la mémorisation des cris de congénères, notamment celui du mâle partenaire, conduit à des changements dans la représentation de ces cris au sein du NCM. Nos résultats indiquent que chez les femelles vivant en couple, les neurones du NCM répondent plus fortement au cri du mâle partenaire par rapport au cri d'un mâle inconnu. De plus, si l'on familiarise les femelles avec un autre mâle quelques jours avant les expériences, nous observons que les neurones du NCM répondent également plus fortement aux cris de ce mâle familial qu'au cri d'un mâle inconnu. Cette préférence dans les réponses des neurones pour les cris de mâles connus se retrouve également pour les cris de femelles : les neurones répondent plus fortement au cri d'une femelle familière qu'au cri d'une femelle inconnue. En outre, nos expériences montrent que chez des femelles ne les ayant jamais entendus auparavant, la diffusion des cris utilisés chez les femelles vivant en couple provoquent des réponses équivalentes au sein du NCM. De ce fait, les réponses observées chez les animaux en couple ne sont pas dues à un paramètre acoustique particulier contenu dans les cris.

Le NCM est une région auditive qui est caractérisée par une diminution des réponses des neurones au fur et à mesure de la présentation successive du même signal acoustique (Chew et al., 1995, 1996a; Stripling et al., 1997). Dans notre étude, nos données montrent une diminution du taux de réponse des neurones aux différents cris présentés. Toutefois, que ce soit pour les cris de mâles ou de femelles, nous n'observons pas de différence dans le taux d'habituation des réponses entre les cris connus et inconnus. Par conséquent, la différence observée dans les

réponses en faveur des cris connus par rapport aux cris inconnus n'est pas due à une diminution plus forte des réponses pour les cris inconnus sur les 50 présentations.

Dans ces conditions, comme la différence dans les réponses en faveur des cris familiers chez les femelles ne peut être expliquée ni, par la présence d'un paramètre acoustique provoquant de fortes réponses aux cris familiers, ni, par une différence dans le taux d'habituation entre les signaux familiers et inconnus, nos résultats suggèrent que les neurones du NCM discriminent entre les signaux de communication connus et ceux inconnus. Sur la base de nombreuses études ayant montré chez les mammifères une surreprésentation des signaux ayant une signification au niveau cortical après un apprentissage (pour revue, Weinberger, 2004b), nous nous attendions à ce que la présentation d'un cri s'accompagne de réponses plus fortes de la part de la population globale des neurones chez les femelles pour lesquelles ce cri était émis par des individus connus, par rapport à des femelles pour lesquelles ce cri était inconnu. Nos résultats ne montrent pas une telle surreprésentation. Ce qu'ils révèlent, c'est une augmentation du contraste dans les réponses aux cris connus et inconnus chez les femelles en couple par rapport aux femelles contrôles, ce qui se traduit par un plus grand nombre de cellules sélectives chez les femelles en couple que chez les femelles contrôles. Ce type de représentation a déjà été décrit dans des études réalisées au sein du cortex auditif de mammifères (Edeline et al., 1993; Edeline, 1998; Fritz et al., 2003, 2005; Galindo-Leon et al., 2009). Des mécanismes liés à l'expérience sociale de l'individu entraîneraient donc un changement dans les réponses auditives des neurones au sein du NCM. Cependant, les fortes réponses aux cris familiers par rapport à celles induites par les cris inconnus pourraient être expliquées par l'exposition des individus aux vocalisations familières les jours précédant les enregistrements électrophysiologiques, indépendamment des interactions sociales entre les individus. Toutefois, chez le bruant chanteur (*Melospiza melodia*), une étude a montré qu'il n'y a pas de différence dans l'expression de *Zenk* au sein du NCM dorsal entre la présentation d'un chant inconnu et celle d'un chant auquel les oiseaux avaient préalablement été exposés deux semaines avant l'expérience (McKenzie et al., 2006). De plus, par le biais d'un conditionnement opérant avec un renforcement positif, Thompson & Gentner (2010) ont entraîné des étourneaux à discriminer entre deux chants de congénères, et entre chaque session d'entraînement, un troisième chant était présenté mais celui-ci sans aucun renforcement ni aucune valeur comportementale. De cette manière les auteurs ont pu mettre en évidence que la présentation des chants appris entraînait des réponses différentes par rapport à celle de chants inconnus, alors qu'en revanche, il n'y a aucune différence dans les réponses entre les vocalisations inconnues et le troisième chant pourtant déjà entendu. Ces deux études suggèrent que la simple exposition « passive » n'influe pas sur les réponses au sein du NCM mais que si les vocalisations acquièrent une signification pour les individus, alors cela influe sur les réponses des neurones. Nos résultats suggèrent donc

qu'au travers de l'interaction sociale, les cris de distance d'un couple de familier ont acquis une signification pour les individus et que cela provoque des différences dans les réponses des neurones du NCM entre ces cris familiaux et des cris de congénères inconnus. L'expérience sociale façonne donc les réponses auditives des neurones du NCM, notamment en les rendant plus sélectifs envers les signaux ayant une signification pour les individus.

Enfin, si d'un point de vue comportemental, les femelles diamants mandarins sont capables de discriminer entre les cris de mâles et de femelles (Vicario et al., 2001), nos résultats ne montrent aucune différence dans la force moyenne des réponses entre les cris de mâles et de femelles, suggèrent ainsi qu'aucune catégorisation selon le sexe des vocalisations n'est faite au sein du NCM chez les femelles. Nos données rejoignent celles de Gobes et al., (2009), qui ne montrent aucune différence dans l'expression du gène *Zenk* entre les cris de mâle et de femelle dans le NCM médian (entre 240 à 400 μ m par rapport au sillon central) alors que l'expression de *Zenk* est plus forte pour les cris de femelle que pour les cris de mâle dans la partie la plus latérale du NCM (entre 700 et 1000 μ m en latéral par rapport au sillon central). Or, dans notre étude les enregistrements ont justement été pratiqués en moyenne entre 200 et 500 μ m en latéral par rapport à la ligne médiane. Les différentes parties du NCM semblent donc jouer des rôles différents dans le traitement du sexe des cris de distance. Il serait donc très intéressant de réaliser des expériences électrophysiologiques dans la partie latérale du NCM afin de confirmer la différence de traitement dans les différentes parties du NCM et plus globalement le rôle de cette région auditive dans la discrimination des cris de distance mâles et femelles.

Par conséquent, comme nos résultats mettent en évidence un effet de la familiarité mais pas d'effet du sexe des vocalisations sur les réponses des neurones on pourrait s'attendre à ce que les cellules qui répondent plus aux cris du mâle familier par rapport au cri du mâle inconnu répondent également plus au cri de la femelle familière qu'au cri de la femelle inconnue. Or, nos analyses révèlent que la plupart des cellules qui sont sélectives pour le cri du mâle familier ne sont pas celles qui sont sélectives pour le cri de la femelle familière. Ainsi, en tenant compte du degré de familiarité, la sélectivité de certaines cellules permettrait toutefois de discerner les cris de mâles des cris de femelles.

3.4 Étude des réponses des neurones du NCM à la présentation de cris : chez les mâles

3.4.1 Introduction

Chez les mâles diamant mandarins, nous avons également cherché à déterminer si la mémorisation de cris de congénères modifiait la représentation de ces signaux au sein du NCM et donc si cette région auditive était, comme chez les femelles, impliquée dans la discrimination des cris de longue distance d'individus connus par rapport aux cris d'individus inconnus.

3.4.2 Réponses des neurones du NCM aux cris de femelles chez les mâles mandarins

3.4.2.1 Chez les mâles vigiles en couple

Les réponses de 25 sites multi-unitaires chez 8 mâles diamants mandarins vigiles ont été enregistrées pendant la présentation du cri de la femelle partenaire, d'une femelle familière et d'une femelle inconnue. La présentation de des cris de distance entraîne chez une très grande majorité des enregistrements une augmentation de l'activité des neurones et ce quel que soit le degré de familiarité des mâles avec les cris de femelles, ce qui se traduit par des valeurs moyennes de Z-Scores positives et l'absence de différence significative dans la force des réponses des neurones entre les différents cris de femelles (effet type de cri, $F_{2,48}=0,04$; $p=0,96$)(fig. 14A, 14B).

En outre, les neurones se ne montrent pas plus sélectifs envers le cri de la femelle partenaire par rapport au cri d'une femelle inconnue ($d' \pm$ écart-type, $-0,38 \pm 0,31$; la distribution ne varie pas par rapport à 0, $t=-1,27$; $p=0,21$), envers le cri de la femelle familière par rapport au cri inconnu ($d' \pm$ écart-type, $0,05 \pm 0,27$; $t=-0,18$; $p=0,86$) et envers le cri de la partenaire que pour le cri de la familière ($d' \pm$ écart-type, $-0,39 \pm 0,20$, distribution ne varie pas par rapport à 0, $t=-1,98$; $p=0,053$). Si l'on regarde la distribution des valeurs de d' (fig. 14C), on observe qu'il y a un nombre comparable de neurones qui se montrent sélectifs pour les trois cris (entre 16 et 24%). En résumé, nos résultats chez les mâles diamants mandarins ne mettent pas en évidence une discrimination entre les vocalisations de femelles au sein du NCM chez les mâles.

Nous avons également analysé l'évolution des réponses des neurones du NCM aux présentations répétées du cri de la femelle partenaire, familière et inconnue. En comparant les taux de réponses entre la première et les 5 dernières présentations de chaque cri de distance de

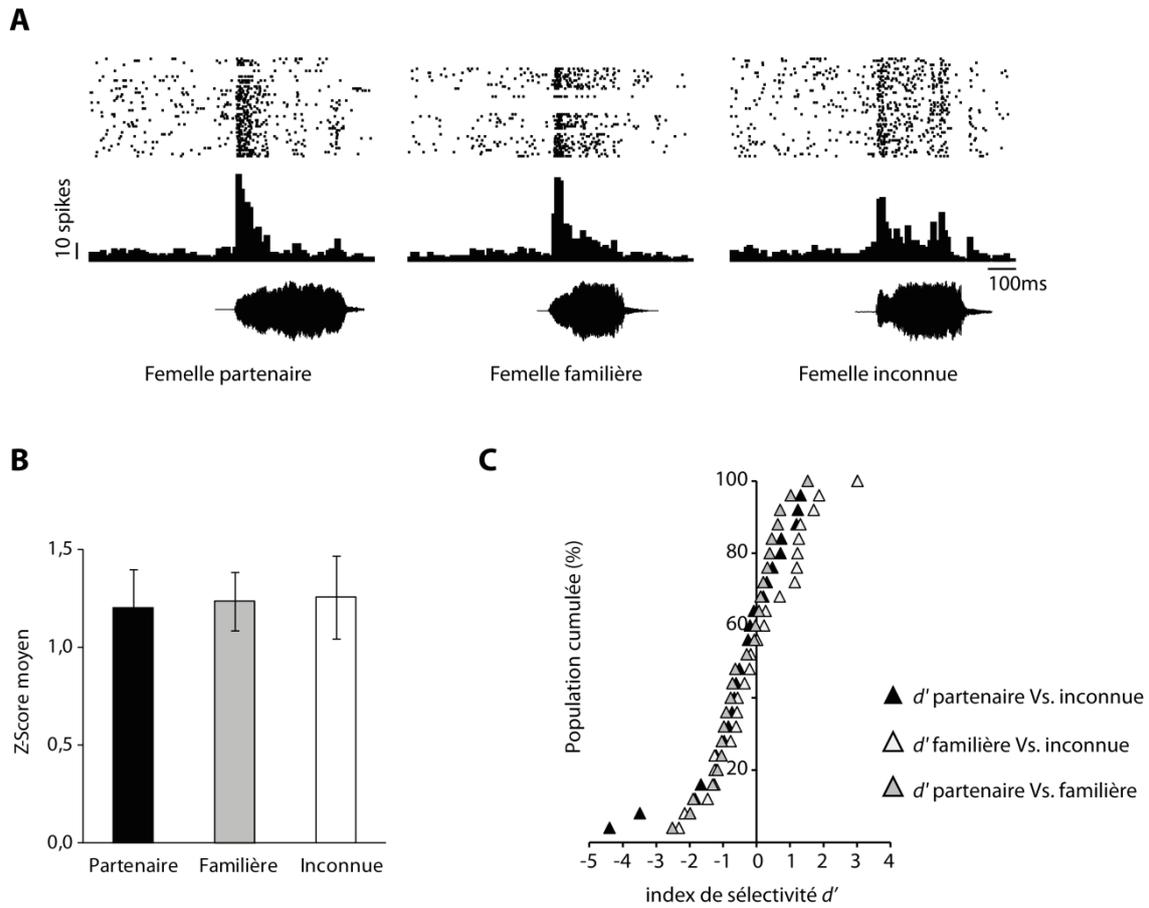


Figure 14 : Exemple de réponses multi-unitaires aux cris de longue distance de femelles chez les mâles vigiles (A). Aucune différence dans les forces des réponses (B) ainsi que dans la sélectivité des enregistrements (C) entre les différents cris de femelles.

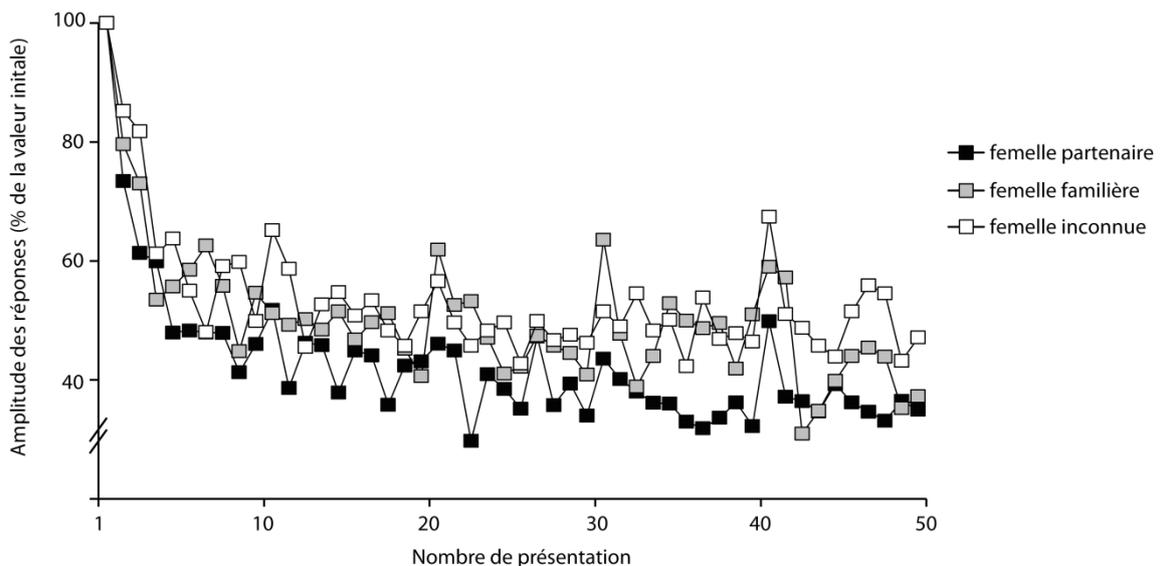


Figure 15 : Amplitude des réponses essai par essai, exprimée en pourcentage par rapport à la valeur initiale, au cri de la femelle partenaire (en noir), de la femelle familière (en gris) et de la femelle inconnue (en blanc) chez les mâles vigiles. Les premières présentations successives entraînent une forte diminution du taux de réponse moyen pour qu'ensuite celui-ci soit réduit de moitié de la 15ème à la 50ème répétition.

femelles, nos résultats indiquent une diminution significative du taux de décharge des neurones (cri 1 Vs. cris 45-50, $F_{1,24}=37,46$; $p<0,001$). Néanmoins, nous n'observons pas de différence dans le taux d'habituation des réponses entre les différents cris de femelles (effet type de cri X effet répétition, $F_{2,48}=0,49$; $p=0,61$)(fig. 15).

3.4.2.2 Chez les mâles anesthésiés en couple et contrôles

Chez les mâles vivant en couple nous avons enregistré les réponses de 67 cellules bien différenciées, contre 56 cellules chez les mâles contrôles. La présentation des vocalisations de femelles entraîne des réponses soutenues au sein du NCM chez les deux groupes de mandarins (fig. 16A). Chez les mâles vivant en couple, les neurones du NCM répondent aussi fortement au cri de la femelle partenaire qu'au cri de la femelle familière ou bien de la femelle inconnue ($F_{2,132}=0,19$; $p=0,83$). Chez les mâles contrôles, nos résultats ne montrent pas non plus différence dans la force des réponses aux différents cris de femelles ($F_{2,110}=1,04$; $p=0,36$)(fig. 16B, 16C). Les distributions cumulées des réponses au cri de la femelle partenaire sont similaires à celles obtenues pour le cri de la femelle inconnue chez les mâles vivant en couple ainsi que chez les mâles contrôles (fig. 16E, 16F).

Chez les mâles en couple, les neurones ne se montrent pas sélectifs pour un type de cri que pour un autre, quel que soient les cris considérés, ce qui se traduit par des index de sélectivité moyen proche de 0 ($d' \pm$ écart-type, d' partenaire Vs. inconnue, $0,001 \pm 0,10$; d' familière Vs. inconnue, $-0,02 \pm 0,09$; d' partenaire Vs. familière, $-0,02 \pm 0,07$). Il en est de même chez les mâles contrôles (d' partenaire Vs. inconnue, $-0,14 \pm 0,09$; d' familière Vs. inconnue, $-0,09 \pm 0,08$; d' partenaire Vs. familière, $-0,21 \pm 0,08$). Aucune des distributions des valeurs de d' n'est significativement différente de zéro (tous les $p>0,12$). De plus, les valeurs des d' ne diffèrent entre les mâles en couple et les mâles contrôles (d' partenaire Vs. inconnue, $t=1,01$, $p=0,31$; d' familière Vs. inconnue, $t=0,89$; $p=0,37$; d' partenaire Vs. familière, $t=1,91$; $p=0,06$)(fig. 17).

Chez nos deux groupes de mâles, nous constatons une baisse significative des réponses des neurones au fur et à mesure de la présentation successive du même cri de femelle (chez les mâles en couple, cri 1 Vs. cris 45-50, $F_{1,66}=22,99$; $p<0,0001$; chez les mâles contrôles, $F_{1,55}=21,50$; $p=0,0003$). Cependant, nos résultats ne montrent aucune différence significative entre le taux d'habituation des réponses au cri de la femelle partenaire et celui pour le cri de la femelle inconnue (effet type de cris X effet répétition, chez les mâles en couple, $F_{1,66}=0,01$; $p=0,92$; chez les mâles contrôles, $F_{1,55}=0,07$; $p=0,79$).

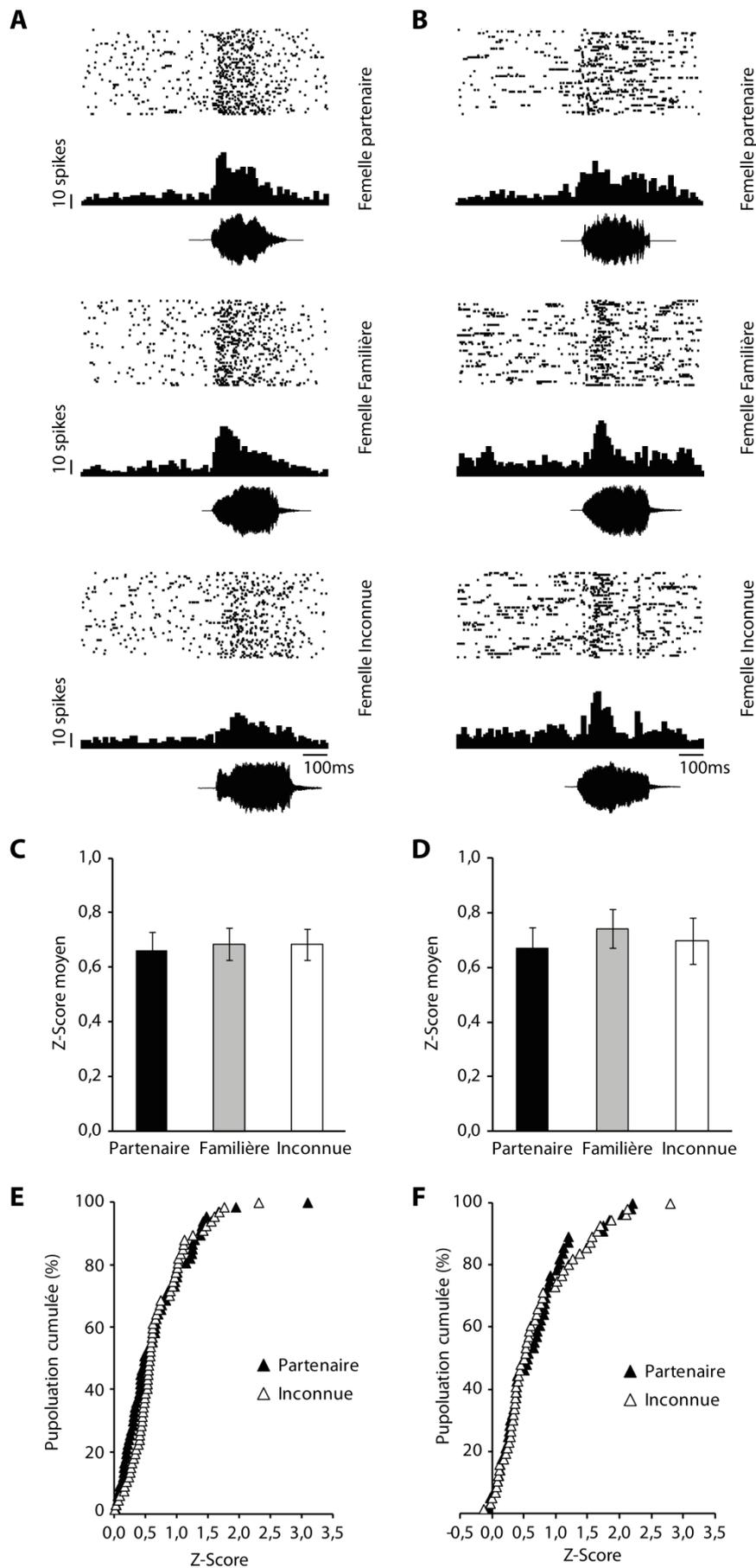


Figure 16 : Exemple de réponses aux cris de femelles chez les mâles anesthésiés vivant en couple (A) et contrôles (B). Il n'y a aucune différence dans les réponses exprimées par le Z-Score ainsi que dans les distributions des valeurs entre les cris de la femelle partenaire, familière et inconnue chez les mâles en couple (C, E) et contrôles (D, F).

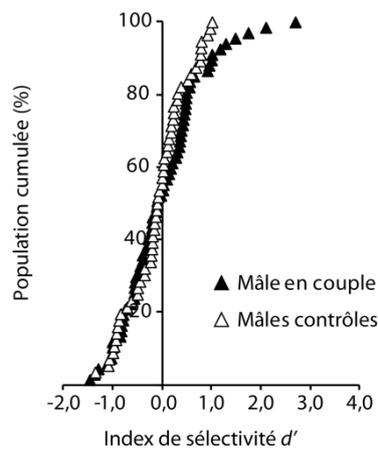


Figure 17 : La comparaison des distributions des index de sélectivité d' entre les mâles en couple et contrôles (cri de la femelle partenaire contre cri de la femelle inconnue) montre qu'il n'y a aucune différence dans le degré de sélectivité entre un cri connu et un inconnu chez les mâles en couple et celui entre deux cris inconnus chez les mâles contrôles.

3.4.3 Réponses des neurones du NCM aux cris de mâles

Nous avons également voulu savoir si les neurones du NCM répondaient différemment au cri d'un mâle familier par rapport au cri d'un mâle inconnu.

3.4.3.1 Chez les mâles vigiles vivant en couple

Chez les mâles vigiles vivant en couple, nous constatons que dans la grande majorité de nos enregistrements multi-unitaires la présentation des cris de mâles induit une importante augmentation du taux de décharge des neurones (fig. 18A). Toutefois, nous n'observons aucune différence significative dans la force des réponses entre le cri du mâle familier et celui du mâle inconnu (Z-Score \pm écart-type, $1,22 \pm 0,17$ Vs. $1,05 \pm 0,17$; $F_{1,24}=1,06$; $p=0,31$)(fig. 18B). De plus, il n'y a pas de différence dans les distributions des valeurs de Z-Scores entre le cri du mâle familier et du mâle inconnu ($\chi^2=2,98$; $p=0,93$)(fig. 18C) ni même dans le nombre de sites d'enregistrement qui répondent plus au cri du mâle familier comparé au cri d'un mâle inconnu (13/25, 52%).

Nous avons exploré la sélectivité des neurones envers les cris de mâles. L'ensemble des enregistrements multi-unitaires affichent un index de sélectivité moyen positif ($0,32 \pm 0,21$), toutefois la distribution des index de sélectivité ne diffère de 0 ($t=1,59$; $p=0,12$)(fig. 18D). Les neurones ne se sont donc pas sélectifs pour le cri du mâle familier ou du mâle inconnu.

Chez les mâles vigiles nos résultats montrent également une habituation des réponses durant la présentation répétée du cri du mâle familier ou du mâle inconnu (cri 1 Vs. cris 45-50, $F_{1,24}=48,06$; $p<0,0001$)(fig. 19). Cependant, il n'existe aucune différence dans le taux d'habituation des réponses entre le cri du mâle familier et celui du mâle inconnu (effet type de cri X effet répétition, $F_{1,24}=0,56$; $p=0,46$).

3.4.3.2 Chez les mâles anesthésiés vivant en couple et contrôles

Chez les mâles anesthésiés la présentation de cris de mâles entraîne une augmentation du taux de décharge des neurones enregistrés (fig. 20A, 20B). Toutefois, nos résultats ne montrent aucune différence dans la force des réponses entre le cri du mâle familier et celui du mâle inconnu chez les mâles en couple (Z-Score \pm écart-type, $0,71 \pm 0,06$ Vs. $0,62 \pm 0,06$; $F_{1,66}=3,57$; $p=0,08$)(fig. 20C) ou chez les mâles contrôles (Z-Score \pm écart-type, $0,75 \pm 0,07$ Vs. $0,73 \pm 0,08$; $F_{1,54}=0,13$; $p=0,72$)(fig. 20D).

Chez nos deux groupes expérimentaux, les distributions des réponses sont superposées, indiquant qu'il n'y a pas de différence dans la manière de répondre des neurones au cri du mâle familier par rapport au cri du mâle inconnu (intervalles de 0,2 ; mâles en couple, $\chi^2=9,05$; $dll=12$; $p=0,70$; mâles contrôles, $\chi^2=12,02$; $dll=12$; $p=0,44$)(fig. 20E, 20F).

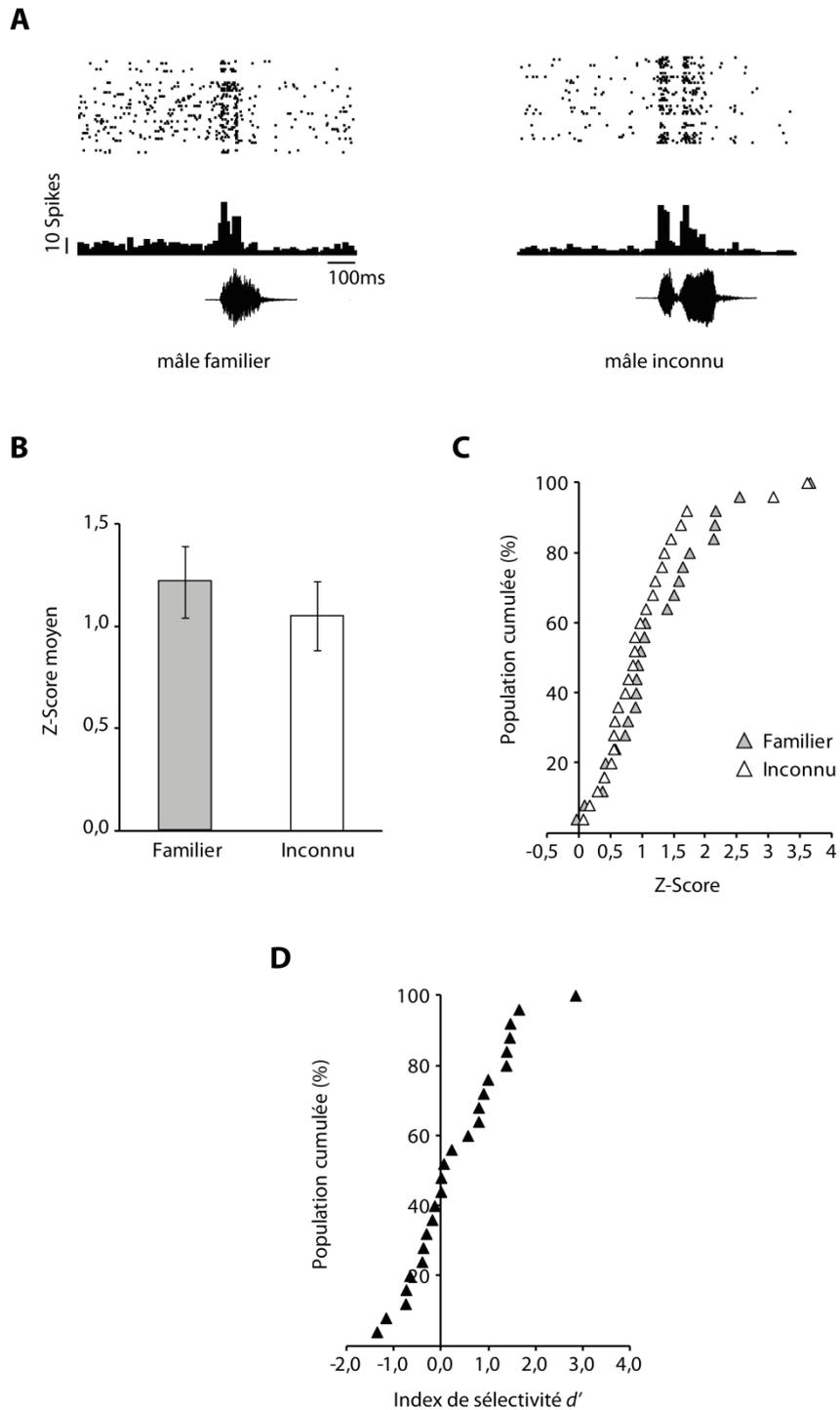


Figure 18 : Chez les mâles vigiles, les cris de longue distance du mâle familier et du mâle inconnu provoquent des réponses comparables lors de leur présentation. La figure (A) donne un exemple de réponse d'un site d'enregistrement aux deux cris de mâles. Les moyennes des forces des réponses des 14 sites d'enregistrements multi-unitaires, exprimées par le Z-Score (B), indiquent que les neurones répondent aussi fortement au cri du mâle familier qu'au cri du mâle inconnu. De plus, nous observons que la distribution des réponses entre le cri du mâle familier et du mâle inconnu sont similaires (C) et que les neurones ne sont pas sélectifs pour l'un des deux cris de mâles (D).

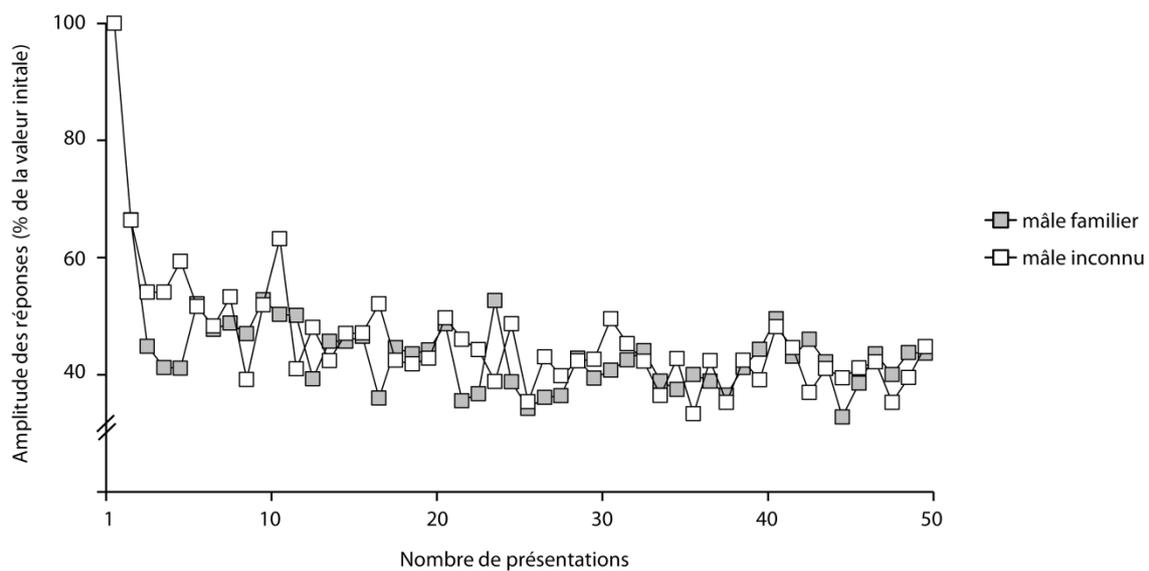


Figure 19 : Taux de réponse au sein du NCM au fur et à mesure de la présentation du cri du mâle familier (en gris) et du mâle inconnu (en blanc). Bien que le taux de réponse diminue au fur et à mesure de la diffusion des 50 itérations des cris, il n’y a pas de différence dans la baisse des réponses entre les cris des deux mâles.

Nos résultats montrent que chez les deux groupes expérimentaux les neurones enregistrés ne sont pas sélectifs pour un cri de mâle par rapport à un autre, ce qui se traduit par des index de sélectivité moyen proche de 0 ($d' \pm$ écart-type, chez les mâles en couple, $0,19 \pm 0,10$, chez les mâles contrôles, $0,23 \pm 0,10$). De plus, les distributions des index de sélectivité entre les mâles en couple et contrôles sont identiques et nous n'observons pas de différence entre les deux distributions ($t_{121}=0,33$; $p=0,74$)(fig. 21). Enfin, il n'y a pas plus de neurones sélectifs pour le cri du mâle familier ou pour le cri du mâle inconnu chez les mâles en couple (13 cellules sur les 67 enregistrées affichent un $d' < -1$ ou > 1) que chez les mâles contrôles (9/56 cellules)($\chi^2=2,82$; $p=0,93$).

La présentation successive du même cri de mâle familier ou inconnu provoque une diminution significative des réponses des neurones du NCM (cri 1 Vs. cris 45-50, chez les mâles en couple, $F_{1,65}=20,72$; $p < 0,0001$; chez les mâles contrôles, $F_{1,55}=8,76$; $p < 0,0001$). Encore une fois, chez les mâles en couple nos analyses ne révèlent aucune différence dans le taux d'habituation des réponses entre le cri du mâle familier et celui du mâle inconnu (effet type de cri X effet répétition, $F_{1,65}=0,01$; $p=0,93$). Il en est de même chez les mâles contrôles (effet type de cri X effet répétition, $F_{1,55}=0,21$; $p=0,65$).

3.4.3.3 Comparaisons des réponses aux vocalisations de mâles et de femelles chez les mâles

Comme nous venons de le voir nos expériences ne montrent aucune différence dans le traitement des cris de distance mâles ou femelles connus et inconnus chez les mâles diamants mandarins. Cependant, nous avons voulu savoir si les neurones du NCM répondaient différemment aux cris de mâles par rapport aux cris de femelles (effet du sexe des vocalisations). Comme chez les femelles mandarins, les comparaisons des réponses ont été réalisées entre les cris de longue distance de femelles et de mâles familiers et inconnus, je ne tiendrais pas compte des réponses au cri du partenaire sexuel (fig. 22).

Chez les trois groupes de mâles, nos analyses ne révèlent aucune différence dans les forces de réponse entre les cris de mâles et les cris femelles inconnus (Vigiles, $F_{1,24}=1,73$; $p=0,20$; Anesthésiés, $F_{1,66}=1,98$; $p=0,16$; Contrôles, $F_{1,55}=0,15$; $p=0,70$). De plus, comme attendu, aucune interaction n'a été révélée par les analyses statistiques entre le sexe des vocalisations et le degré familiarité chez les mâles vivant en couple vigiles et anesthésiés comme chez les mâle contrôles, pour lesquels tous les cris étaient inconnus (effet sexe des vocalisations X effet familiarité, mâles vigiles, $F_{1,24}=0,67$; $p=0,42$; mâles anesthésiés, $F_{1,66}=3,67$; $p=0,06$; mâles contrôles, $F_{1,55}=0,16$; $p=0,69$).

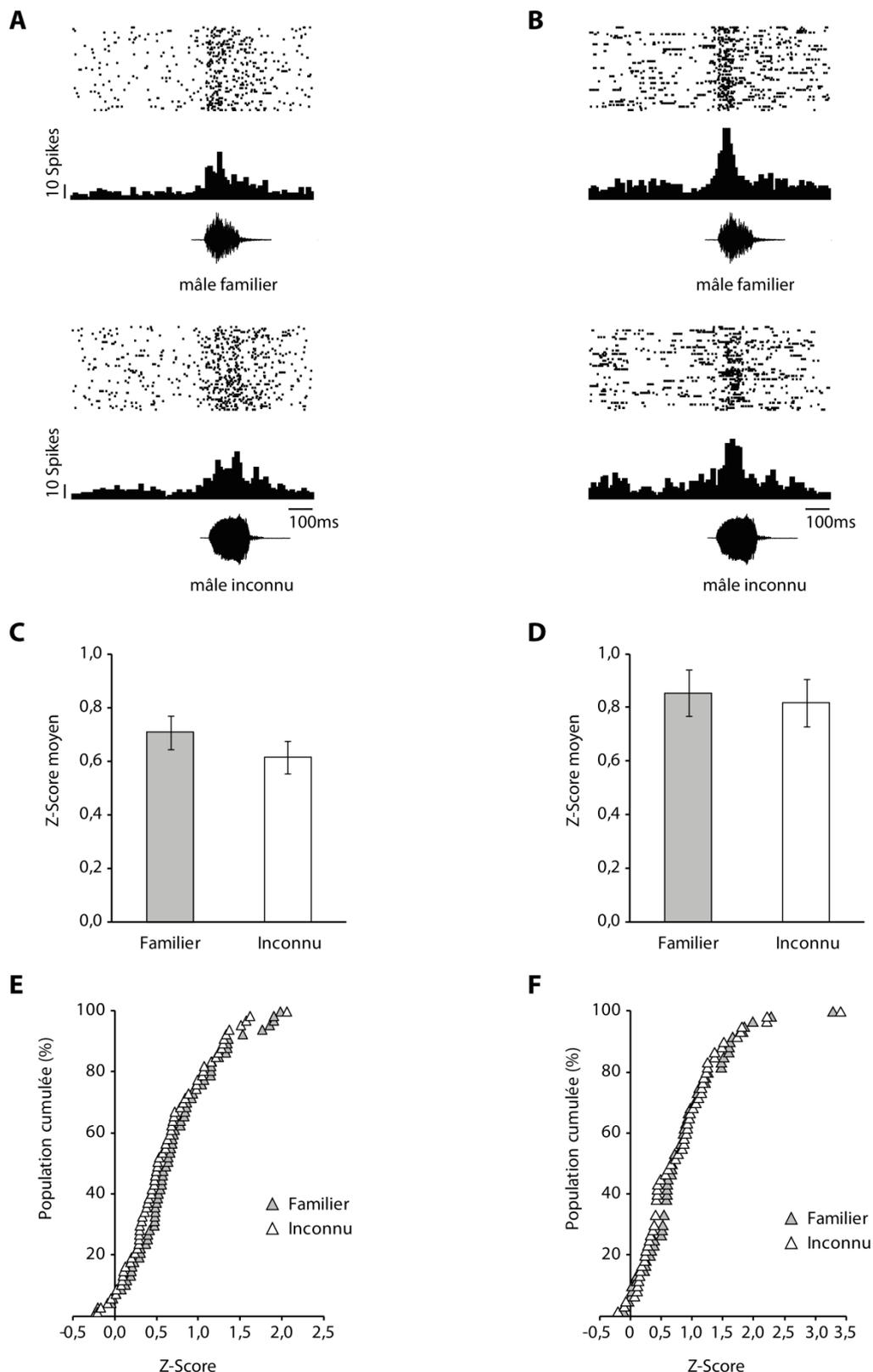


Figure 20 : Réponses d'un neurone au cri du mâle familier et d'un mâle inconnu chez les mâles anesthésiés vivant en couple (A) et contrôles (B). Nous n'observons aucune différence dans la force des réponses aux différents cris de mâles autant chez les mâles en couple (C) que chez les mâles contrôles (D). De plus, il n'y a aucune différence entre les distributions des réponses au cri du mâle familier et celui du mâle inconnu que ce soit chez les mâles en couple (E) ou chez les mâles contrôles (F).

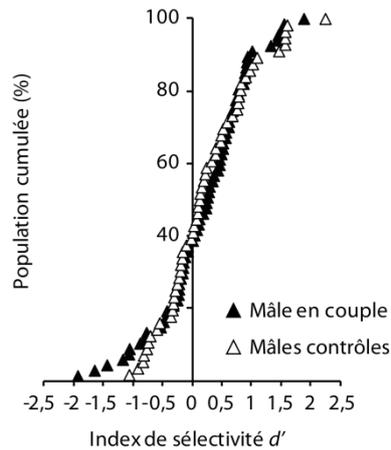


Figure 21 : Aucune différence dans le degré de sélectivité des neurones entre les mâles vivant en couple, familiarisés avec l'un des deux cris, et les mâles contrôles pour qui les deux vocalisations sont inconnues.

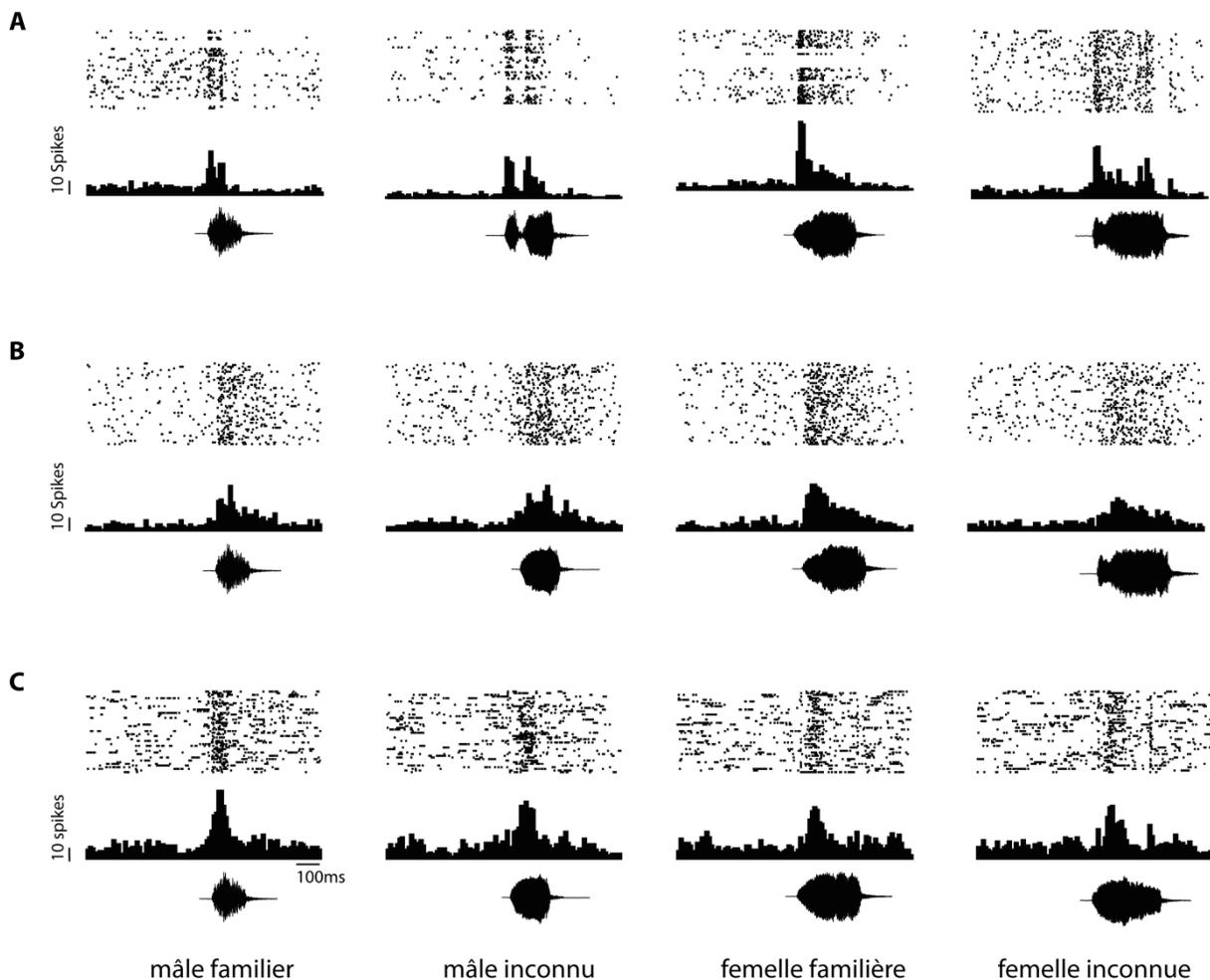


Figure 22 : Péri-stimulus histogrammes (comprenant 500ms avant la présentation du cri qui est indiquée par son enveloppe d'amplitude placée sous chaque figure). Chaque barre de l'histogramme représente le nombre de potentiel d'action émis toutes les 10ms et chaque point représente un PA lors des 50 présentations (raster). Chez nos 3 groupes expérimentaux, mâles vivant en couple vigiles (A), anesthésiés (B) et enfin contrôles (C), nous n'observons aucune différence dans les réponses entre les cris de congénères mâles, familier ou inconnu, et ceux de femelles, familière et inconnue.

3.4.4 Discussion des résultats obtenus chez les mâles

Nous avons voulu déterminer s'il existe au sein du NCM des mâles diamants mandarins une sélectivité en faveur des cris ayant acquis une signification pour les individus. Chez les mâles en couple, les neurones du NCM ne présentent aucune différence dans leurs réponses au cri de la femelle partenaire par rapport à celui d'une femelle inconnue ou bien d'une femelle familière. Ils ne différencient pas non plus le cri d'un mâle familial par rapport à celui d'un mâle inconnu. Chez les mâles contrôles, pour lesquels toutes les vocalisations présentées étaient inconnues, nous n'observons pas non plus de préférence dans les réponses des neurones aux cris des différentes femelles et des mâles. Dans l'ensemble, nos expériences montrent que chez les mâles la mémorisation du cri d'un individu par le biais d'interactions sociales n'entraîne aucun changement dans la représentation de ce signal acoustique au sein du NCM.

Cependant, dans cette étude, nos analyses reposent essentiellement sur le taux de décharge des neurones. Or, des travaux montrent que si le taux de décharge n'est pas suffisant pour permettre la discrimination entre les vocalisations, alors le pattern de décharge des neurones peut transmettre de l'information en ce qui concerne les signaux évoluant dans le temps comme les vocalisations (Gehr et al., 2000; Schnupp et al., 2006). Il faut garder à l'idée que le codage des vocalisations doit certainement reposer à la fois sur le taux de décharge et le pattern de décharge des neurones (Huetz et al., 2011). Par ailleurs, les décharges des neurones peuvent être temporellement imprécises, et une étude montre alors que le codage des vocalisations par un ensemble de neurones peut alors fortement augmenter la discrimination entre les vocalisations (Schneider and Woolley, 2010). Un codage populationnel des vocalisations est donc également à prendre en compte. Des analyses complémentaires seraient donc nécessaires pour déterminer comment sont représentées les vocalisations familières par rapport aux vocalisations inconnues au sein du NCM des mâles diamants mandarins. L'analyse du pattern temporel des décharges des neurones apparaît comme une piste susceptible de mettre en évidence un codage des vocalisations connues au sein du NCM chez les mâles diamants mandarins.

D'autres régions auditives, que celles où nos enregistrements ont été réalisés, pourraient être impliquées dans la discrimination des signaux appris par rapport aux signaux inconnus. Des études très récentes mettent en évidence des différences aussi bien dans les réponses des neurones que dans l'expression du gène *Zenk* entre le NCM dorsal et ventral. Tout d'abord, chez l'étourneau (*Starling vulgaris*), les réponses électrophysiologiques des neurones sont plus fortes dans le NCM ventral pour des chants inconnus que pour des chants appris lors d'un conditionnement opérant, alors que dans les NCM dorsal, aucune différence dans la force des réponses n'est mise en évidence entre les chants appris et inconnus (Thompson and Gentner, 2010). Ensuite, chez les mâles bruants chanteurs (*Melospiza melodia*), alors que dans le NCM

ventral la présentation d'un chant inconnu provoque une expression de *Zenk* plus forte que la présentation d'un chant avec lequel les individus avaient été familiarisés pendant une semaine, dans le NCM dorsal aucune différence n'est observée entre les deux chants (McKenzie et al., 2006). Bien que ces études utilisent comme signaux de communication des chants et pas des cris, il est possible que chez les mâles diamant mandarins, les réponses des neurones du NCM dorsal que nous avons recueillies ne reflètent pas la familiarité pour les cris de distance présentés, mais que cela soit éventuellement le cas dans le NCM ventral.

Des études ont également mis en évidence un rôle du mesopallium caudomedian (CMM) dans la reconnaissance de stimuli auditifs. Tout d'abord, une première étude en 2003, rapporte tout d'abord que les neurones du CMM répondent plus fortement aux chants conspécifiques qu'aux sons synthétiques (Grace et al., 2003). Ce n'est que récemment que des études révèlent que les neurones présentent une forte sélectivité envers les chants appris par rapport à des chants de congénères inconnus mais également que l'apprentissage augmente la quantité d'information transmise par les trains de potentiel d'action au sein du CMM des mâles étourneaux (Gentner and Margoliash, 2003; Jeanne et al., 2011). De plus, l'expression du gène précoce *Zenk* est très forte durant la reconnaissance de chants familiers par rapport à de nouveaux chants (comprendre inconnus) ainsi que pendant l'apprentissage d'un nouveau chant au sein du CMM, alors qu'au sein du NCM l'expression du gène *Zenk* n'est importante seulement pendant l'apprentissage de nouveaux chants (Gentner et al., 2004). Aussi, au vu de nos résultats chez les mâles diamant mandarins et compte tenu de la littérature, le CMM qui pourrait être impliqué dans la discrimination des vocalisations connues par rapport aux vocalisations inconnues chez les mâles diamants mandarins.

Enfin, le fait que nous n'observions pas chez les mâles de différence dans la force des réponses des neurones entre des cris d'individus familiers et des cris d'individus inconnus et que nous n'ayons pas réalisé de tests comportementaux permettant de déterminer si, dans nos conditions expérimentales, les mâles étaient capables de répondre différemment aux cris connus par rapport à des cris inconnus, ne nous permet pas d'exclure l'idée que les mâles de nos études ne discriminaient pas, d'une part, entre les cris d'une femelle connue et celui d'une femelle inconnue et d'autre part, entre le cri d'un mâle familier et celui d'un mâle inconnu. Jusqu'à présent, aucune étude comportementale n'a montré que les mâles sont capables de discriminer entre deux cris de mâles en fonction du degré de familiarité. En ce qui concerne les cris de femelles, en revanche, deux études montrent une discrimination entre des cris en fonction de ce degré de familiarité (Vignal et al., 2004; Perez et al., 2012) suggérant que les mâles sont capables de mémoriser le cri d'une femelle donnée et de répondre différemment (dans ces deux études par l'émission de cris) à ce cri par rapport au cri d'une femelle inconnue. Cependant, dans ces deux études, les mâles ne montraient une telle discrimination qu'en présence d'un autre couple

d'individus. De plus, l'étude de Perez et al, 2012 indique que, lorsque les mâles sont isolés, sous l'effet d'un stress, comme en témoigne une élévation du taux de corticostérone, ils répondent de la même façon à un cri d'une femelle, avec lequel ils ont été familiarisés, qu'à un cri de femelle qu'ils n'avaient jamais entendu. La présence d'un couple de diamants mandarins semble donc jouer un rôle crucial sur la façon dont les mâles répondent à la diffusion de cris de femelles. Étant donné cela, puisque notre étude ne met pas en évidence de réponses différentes de la part des neurones du NCM entre le cri d'une femelle connue et celui d'une femelle inconnue chez des mâles vigiles et anesthésiés seuls, la mise en évidence d'une discrimination entre ces deux types de cris, par les neurones du NCM, requiert peut-être le fait que le mâle soit vigile et qu'il soit placé dans un contexte social particulier, c'est à dire en présence d'un autre couple.

Dans cette étude, nos résultats ne mettent pas en évidence de différence dans les réponses des neurones du NCM entre les cris de mâles et de femelles. De plus, il a été montré qu'une lésion bilatérale du NCM par un neurotoxique n'altère pas la capacité des mâles à discriminer entre les cris de distance de mâles et de femelles (Gobes and Bolhuis, 2007). Par conséquent, nos données électrophysiologiques couplées avec les résultats obtenus suite à la lésion du NCM n'apportent pas d'argument en faveur d'une implication du NCM dans la discrimination entre les cris de mâles et les cris de femelles. Cependant, comme les données comportementales indiquent que les mâles et les femelles sont capables de discriminer entre les cris de mâles et les cris de femelles (Vicario et al., 2001), cela suggère que soit l'approche méthodologique (étude du taux d'émission des potentiels d'action des neurones du NCM lors de la diffusion de cris) n'est pas celle qui permet de mettre en évidence une contribution du NCM dans la discrimination des cris selon le sexe de l'oiseau qui les produit, soit que cette discrimination repose sur la mise en jeu d'un réseau de régions cérébrales qui ne requiert pas le traitement auditif réalisé dans le NCM.

3.5 Comparaison des réponses aux cris entre les mâles et les femelles

3.5.1 Introduction

De nombreuses études montrent des différences au niveau cérébral entre les mâles et les femelles diamants mandarins. C'est particulièrement le cas au niveau des noyaux impliqués dans la production du chant par exemple, avec le HVC (High Vocal Center) qui peut être jusqu'à 8 fois plus volumineux chez les mâles que chez les femelles (Nottebohm and Arnold, 1976). Mais ces différences ne s'arrêtent pas aux noyaux du chant. Plus récemment, Pinaud et al., (2006) ont mis en évidence un dimorphisme sexuel au sein du NCM concernant une sous-population de neurones GABA qui est environ deux fois plus importante chez les mâles que chez les femelles. Étant donné que le NCM renferme une très forte densité de neurones GABA (Pinaud and Mello, 2007), de cette différence pourrait émerger un traitement différent des vocalisations au sein de cette structure entre mâles et femelles. Comme lors de nos expériences nous avons présenté les mêmes cris de longue distance de mâles et de femelles familiers ou inconnus aux animaux des groupes « vivant en couple » et contrôles, nous avons voulu comparer les réponses neuronales obtenues chez les individus mâles et femelles. Seules les réponses aux cris du mâle et de la femelle familiers ainsi qu'aux cris du mâle et de la femelle inconnus seront comparées.

3.5.2 Comparaison de l'activité spontanée des neurones

Avant de comparer les réponses des neurones aux différents cris nous avons examiné l'activité spontanée des cellules du NCM entre les mâles et les femelles. Chez les animaux vigiles, l'activité spontanée est plus forte chez les femelles que chez les mâles, respectivement, 10,4 spikes/seconde en moyenne contre 5,4 spikes/seconde ($t=2,75$; $p=0,01$). Cependant, bien que nous ayons basé nos analyses sur le taux de décharge des neurones pendant la présentation d'un stimulus, pour pouvoir comparer les réponses de différents neurones entre elles nous avons normalisé la réponse de chaque cellule avec sa propre activité spontanée (Z-Score). Ensuite, chez les animaux anesthésiés, en couple et contrôles réunis, nous n'observons pas de différence dans l'activité spontanée entre les mâles et les femelles (1,7 spikes/s chez les femelles contre 2,1 spikes/s chez les mâles, $t=-1,28$; $p=0,20$).

3.5.3 Comparaison de la force des réponses des neurones

Pour comparer la force des réponses aux différentes vocalisations présentées, plusieurs facteurs sont à prendre en compte. Le premier est naturellement le sexe de l'oiseau testé avec les

vocalisations (effet sexe des individus), puis vient le sexe de l'individu émetteur des vocalisations (effet sexe des vocalisations), et enfin chez les individus vivant en couple le degré de familiarité avec les vocalisations diffusées (effet familiarité).

Dans un premier temps, pour déterminer s'il existe une différence dans les réponses des neurones du NCM entre les mâles et les femelles diamants mandarins, nous avons comparé les réponses qu'aux cris de distance inconnus car ces signaux ont la même signification pour chacun des oiseaux testés. Chez les oiseaux vigiles, nos résultats ne montrent pas de différence dans la force des réponses multi-unitaires aux cris inconnus entre les mâles et les femelles mandarins (effet sexe des individus, $F_{1,37}=2,57$; $p=0,12$)(fig. 23A). Nous avons ensuite regardé s'il existait une différence entre les réponses au cri du mâle et de la femelle inconnus mais aucune différence significative n'a été observée (effet sexe du cri, $F=0,15$; $p=0,70$). Enfin, nos analyses montrent que les neurones du NCM des mâles et des femelles répondent de manière comparable aux cris de mâles et aux cris de femelles inconnus car aucune interaction entre le sexe des individus et le sexe du cri n'est mise en évidence ($F_{1,37}=0,85$; $p=0,35$).

Pour les animaux anesthésiés, nous avons regroupé d'une part les réponses aux cris inconnus obtenues chez les femelles en couple et les femelles contrôles, et d'autre part celles des mâles en couple et des mâles contrôles. Comme précédemment chez les oiseaux vigiles, les analyses statistiques ne montrent pas d'effet du sexe des individus testés sur les réponses aux cris inconnus ($F_{1,241}=0,002$; $p=0,97$)(fig. 23B), ni d'effet du sexe du cri présenté ($F=0,42$; $p=0,52$). De plus, nos résultats ne montrent aucune interaction entre le sexe des individus et le sexe des vocalisations inconnues chez nos animaux anesthésiés ($F_{1,241}=0,05$; $p=0,83$). Par conséquent, les neurones du NCM des mâles et des femelles répondent de façon similaire au cri de distance du mâle inconnu et de la femelle inconnue.

Pour finir, nous avons comparé les réponses obtenues chez les mâles et les femelles pour l'ensemble des vocalisations présentées (familières et inconnues), ce qui ajoute un facteur supplémentaire : la familiarité. Chez les animaux vigiles vivant en couple, nos résultats révèlent un effet de la familiarité sur les réponses des neurones du NCM (effet familiarité, $F=17,59$; $p=0,0002$). Comme le montre la figure 24A, cet effet est essentiellement dû aux très fortes réponses des neurones envers les cris familiers chez les femelles. D'ailleurs ces fortes réponses font ressortir une différence dans la force des réponses des neurones entre les femelles et les mâles (effet sexe des individus, $F_{1,37}=14,15$; $p=0,001$). Cette différence repose bien sur la forte augmentation des réponses aux cris de familiers chez les femelles car nous avons vu qu'en ne considérant que les réponses aux cris inconnus, nous n'avons pas de différence dans la force des réponses entre les femelles et les mâles. Enfin, nous avons vu qu'il n'y a pas d'effet de la familiarité sur les réponses neuronales au sein du NCM chez les mâles. De ce fait nos analyses

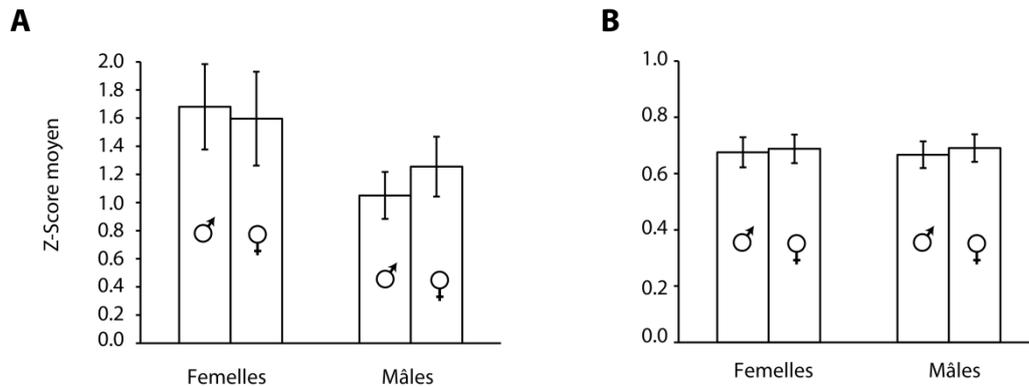


Figure 23 : Comparaison de la force des réponses au cri du mâle et de la femelle inconnu chez les diamants mandarins mâles (bleu) et femelles (rose) vigiles vivant en couple (A) et anesthésiés (en couple et contrôles)(B). Que ce soit chez les animaux vigiles ou chez les animaux anesthésiés il n’y aucune différence dans la force des réponses des neurones entre les mâles et les femelles mandarins.

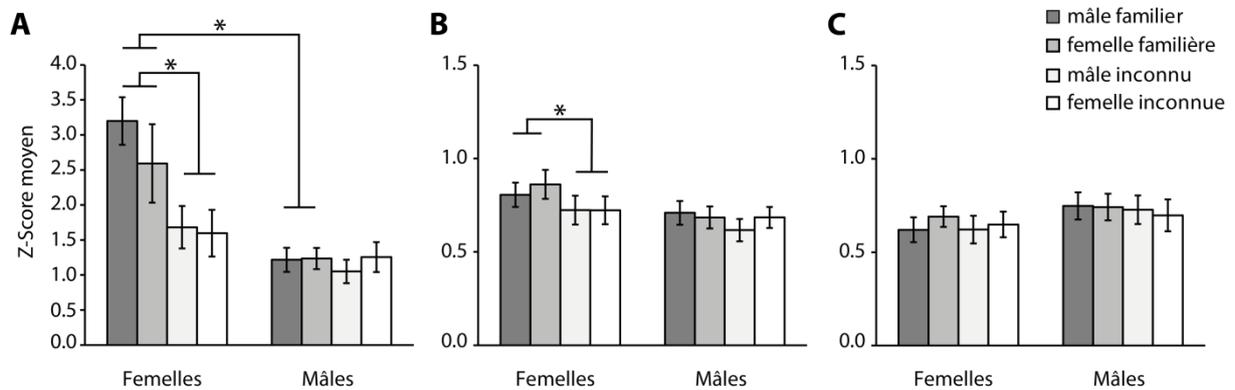


Figure 24 : Force des réponses moyenne pour chaque cri présenté chez les mâles et femelles vivant en couple vigiles (A), anesthésiés (B) et contrôles (C). Nous observons des réponses plus fortes chez les femelles que chez les mâles chez les animaux vigiles mais cela est dû qu’aux cris familiers. Nous n’observons pas cette différence chez les individus anesthésiés en couple ou contrôles. En outre, aucune différence dans la force des réponses aux cris de mâles ou de femelles entre les deux sexes de diamants mandarins.

indiquent qu'il existe une l'interaction entre l'effet de la familiarité et le sexe des individus ($F_{1,37}=13,95$; $p=0,001$).

Chez les animaux anesthésiés vivant en couple (fig. 24B), nos analyses révèlent également un effet de la familiarité sur les réponses des neurones du NCM (effet familiarité, $F=7,83$; $p=0,01$). En revanche, nous n'observons pas de différence dans la force des réponses des neurones entre les femelles et les mâles (pas d'effet sexe des individus, $F_{1,129}=1,68$ $p=0,20$). Aussi, nos analyses ne révèlent pas d'interaction entre l'effet de la familiarité et le sexe des individus sur les réponses des neurones du NCM ($F_{1,129}=1,33$; $p=0,25$).

Concernant les animaux contrôles, pour lesquels toutes les vocalisations entendues sont inconnues, nos résultats ne montrent aucun effet de la familiarité sur les réponses au sein du NCM ($F=0,91$; $p=0,34$), ni de différence dans les réponses entre les mâles et les femelles ($F_{1,110}=0,93$; $p=0,34$). Enfin, nos analyses ne révèlent aucune interaction entre l'effet familiarité et l'effet sexe des individus ($F_{1,110}=0,04$; $p=0,83$).

3.5.4 Discussion

En se basant sur les réponses évoquées par les vocalisations inconnues nous n'observons pas au sein du NCM de différence dans les réponses des neurones entre les mâles et les femelles diamants mandarins. Ce résultat est en accord avec la littérature qui décrit que les réponses électrophysiologiques des neurones du NCM pour les mêmes stimuli auditifs (chants, cris, sons purs) ne différaient pas entre les mâles et femelles (Chew et al., 1996a; Terleph et al., 2007) quel que soit leur âge (Stripling et al., 2001). De plus, nos analyses ne révèlent pas d'interaction entre le sexe des vocalisations et celui des individus testés, c'est-à-dire que chez les individus mâles et femelles, les cris émis par des mâles ou des femelles induisent des réponses comparables. L'ensemble de nos résultats suggèrent donc que pour des signaux d'individus inconnus, les réponses des neurones du NCM sont équivalentes entre les mâles et les femelles, mais également que le NCM n'est pas impliqué dans la discrimination du sexe des vocalisations chez les femelles, comme chez les mâles.

Pour nos expériences, nous avons formé des couples de diamants mandarins, puis nous avons familiarisé ces couples avec les individus d'un couple de congénères. Aussi, d'après les études suggérant que les diamants mandarins sont capables de discriminer entre le cri du partenaire et celui d'un individu familier ou entre le cri d'un individu familier et celui d'un inconnu, les oiseaux utilisés ont eu la possibilité de mémoriser le cri de leur partenaire sexuel et celui des individus devenus familiers (bien que nous ne l'ayons pas évalué d'un point de vue comportemental). Nos analyses révèlent un effet de la familiarité des signaux présentés sur les réponses des neurones du NCM, mais cela uniquement chez les femelles.

Nos expériences suggèrent donc qu'il existe une différence dans le traitement des signaux de communication au sein du NCM entre les mâles et les femelles diamants mandarins si l'on prend en compte l'effet de la familiarisation sur les réponses aux cris. Actuellement peu d'études permettent d'expliquer un tel résultat. Parmi les résultats des quelques études qui ont examiné des différences entre les mâles et les femelles, il peut être cité le fait que des différences existent au sein du NCM caudal entre les mâles et les femelles en ce qui concerne le type de neurones. Une sous-population de neurones GABA, qui exprime une protéine qui lie le calcium, la calbindine, se trouve être deux fois plus importante chez les mâles que chez les femelles (Pinaud et al., 2006). D'après ces auteurs, étant donné que les phénomènes de plasticité synaptique peuvent reposer sur une activation de mécanismes intracellulaires qui dépendent de la concentration en calcium intracellulaire, le fait que, chez les mâles, la capacité à capter le calcium soit plus importante que chez les femelles pourrait rendre les neurones du NCM moins enclins à montrer des changements dans leurs propriétés et donc notamment dans leurs propriétés auditives (Pinaud et al., 2006). Mais, comme le soulignent les auteurs, une telle hypothèse ne repose aujourd'hui sur aucun argument expérimental.

Donc, au vu de l'ensemble des résultats, il est possible que le NCM soit impliqué, chez les femelles, dans la discrimination entre les cris connus et inconnus alors que chez les mâles, il pourrait être mis en jeu dans le traitement d'autres aspects des vocalisations acoustiques.

Chapitre 4.

**Effet du contexte social sur
les réponses des neurones du
NCM chez les mâles**

4.1 Introduction

Le diamant mandarin est une espèce d'oiseau chanteur grégaire, et de ce fait présente une foule de comportements sociaux. Lors des études comportementales en laboratoire, les individus sont généralement isolés de leurs congénères durant la période de test. Les femelles isolées ont montré la capacité de reconnaître les vocalisations de leur mâle partenaire (Miller, 1979). Néanmoins, dans les mêmes conditions, une reconnaissance mutuelle n'a jamais été mise en évidence (Zann, 1996; Sturdy, 2004). En 2004, Vignal et al., ont montré que les mâles répondaient différemment au cri de leur femelle partenaire par rapport au cri d'une femelle familière lorsqu'ils étaient placés en compagnie de congénères. Ainsi, le contexte social d'écoute durant les tests de playback semble jouer un rôle important dans le comportement des mâles, et ce n'est que sous cette condition qu'ils montrent leur capacité à distinguer le cri de leur femelle partenaire parmi d'autres cris.

Des études ont mis en évidence que la combinaison de stimuli visuels et auditifs pouvait moduler la perception des signaux auditif (McGurk and MacDonald, 1976; Campanella and Belin, 2007). Cette intégration multi-sensorielle peut être entre autre expliquée par le fait que le cortex auditif secondaire reçoit des projections du cortex polymodal (aussi connu sous le nom d'aire polysensorielle temporale, TPO) de la partie supérieure du sillon temporal supérieur (STS), recevant elle-même des projections du cortex visuel (Seltzer and Pandya, 1994; Hackett et al., 1999; Karnath, 2001; Ghazanfar et al., 2005). Chez les mammifères, comme le singe rhésus par exemple, la présentation du visage d'un singe mimant l'émission d'une vocalisation en plus de sa diffusion module les réponses auditives dans le cortex auditif secondaire mais elle synchronise également l'activité neuronale entre le cortex auditif secondaire et la source des informations visuelles (STS) par rapport à la présentation séparée de la face ou de la vocalisation (Ghazanfar et al., 2008). Une fonction du traitement multi-sensoriel serait d'améliorer notre perception des signaux dans l'environnement. De ce fait, le gain du traitement multi-sensoriel devrait être plus fort lorsque les signaux perçus sont dégradés. C'est ce qui a été montré chez le macaque, la présentation simultanée d'images et de sons dégradés (recouverts avec du bruit) provoque une augmentation de l'activité dans le cortex auditif plus forte que celle observée pour l'association des stimuli non dégradés (Kayser et al., 2007). Chez l'homme, la vision des mouvements faciaux d'articulation lors de diffusion de mots recouverts par du bruit permet une meilleure reconnaissance des mots dans un environnement bruité que leur diffusion auditive seule (Ross et al., 2007).

Chez les oiseaux chanteurs, des études argumentent également le fait que les aires auditives secondaires sont sensibles à l'association de différentes modalités (comme des stimuli visuels) lors de la présentation de signaux de communication naturels (Jarvis et al., 1995; Avey

et al., 2005). Chez le diamant mandarin, l'expression de *Zenk* varient selon que les mâles sont isolés socialement ou entourés de congénères (Kruse et al., 2004). Il en est de même en ce qui concerne le taux local de testostérone ou d'œstradiol dans le NCM (Remage-Healey et al., 2008).

Le NCM est une zone cérébrale riche en aromatasase, une enzyme qui convertit la testostérone en œstradiol (Pinaud et al., 2006). Il a été montré que l'action des hormones stéroïdes au niveau central peut influencer sur certains comportements des oiseaux (Remage-Healey & Bass, 2006) mais également que les stéroïdes influencent l'excitabilité des neurones en se liant aux canaux ioniques (Lambert et al., 2003 ; Woolley, 2007). En effet, l'activité électrophysiologique des neurones du NCM est augmentée par l'injection d'œstradiol et peut même être inhibée par le blocage pharmacologique de l'enzyme aromatasase (Tremere et al., 2009; Remage-Healey et al., 2010). En outre, la modulation du taux d'œstradiol affecte la préférence comportementale des mâles pour le chant de leur tuteur ou pour leur propre chant par rapport à celui d'un autre individu (Remage-Healey et al., 2010; Tremere and Pinaud, 2011). Ensemble ces résultats montrent que le contexte social, à travers les interactions visuelles et auditives avec les congénères, peut influencer sur le traitement auditif et donc sur la représentation des signaux de communication au sein du NCM.

Dans la première partie de ma thèse, nous avons enregistré l'activité de neurones du NCM chez les mâles lors de la diffusion de cris de distance de femelles et de mâles et nous n'avons observé aucune différence dans les réponses des neurones entre les différents cris. Toutefois, lors de ces expériences les mâles étaient isolés. Aussi, nous avons voulu savoir si chez les mâles vivant en couple, le contexte social pendant les tests de playback pouvait influencer les réponses électrophysiologiques des neurones du NCM en faveur du cri de distance de la femelle partenaire.

Dans cette partie, nous avons présenté des cris de distance de mâles et de femelles familiers et inconnus à des mâles vivant en couple, mais cette fois-ci les enregistrements auront lieu dans trois contextes d'écoute différents. Les contextes d'écoute ont été choisis tout d'abord à partir de l'étude de Vignal et al., (2004) qui avait montré qu'en présence d'un couple de familiers les mâles répondaient plus au cri de leur femelle partenaire qu'au cri d'une femelle familière. Ensuite, une étude a montré que l'expression de *Zenk* est plus importante dans le NCM lorsque les mâles sont placés en présence de deux mâles familiers que lorsqu'ils sont isolés socialement lors des tests de playback (Vignal et al., 2005). Enfin, nous avons voulu savoir si la présence de la femelle partenaire des mâles testés pouvait avoir un effet sur les réponses neuronales au sein du NCM. Aussi, les mâles testés seront en compagnie soit de i) leur femelle partenaire, ii) d'un couple de diamants mandarins familiers, iii) de deux mâles familiers. Nous pourrons alors comparer les réponses enregistrées au sein du NCM aux réponses obtenues lorsque les mâles étaient seuls durant les tests de playback.

4.2 Techniques et méthodes

Sujets. Cinq mâles diamants mandarins adultes vivant en couple ont été utilisés lors de ces expériences. Au préalable, une électrode de faible impédance reliée à un connecteur leur a été implantée dans le cerveau, aux coordonnées stéréotaxiques correspondant au NCM (voir Article dans le chapitre 3 pour plus de détails). Chez un des mâles une double implantation a été réalisée, avec un écart de plus de 1000 μm entre les pointes des deux électrodes. Au moins 3 jours avant le début de l'expérience, les couples de diamants mandarins ont été placés dans une cage entourée de deux autres cages contenant chacune un couple de diamants mandarins. De cette manière les couples testés pouvaient voir et communiquer avec ces deux autres couples de mandarins que nous appellerons familiers.

Stimuli auditifs et contextes d'écoute. Dans cette partie nous avons présenté aux mâles le cri de leur femelle partenaire, des deux mâles et femelles familiers ainsi que de deux mâles et femelles inconnus. L'ensemble des cris a été présenté dans un ordre aléatoire et chacun d'entre eux a été diffusé 50 fois successives.

Lors de chaque expérience à l'intérieur de la chambre sourde, le mâle testé était placé dans une cage à proximité de l'antenne réceptrice de l'appareillage télémétrique. Une seconde cage (cage compagnon), contenant un seul ou deux congénères selon l'expérience, était placée contre la cage du mâle testé. Les deux cages permettaient aux oiseaux de se voir et de communiquer entre eux. Un microphone Sennheiser MD46 était placé face aux deux cages afin de pouvoir enregistrer les échanges vocaux durant la diffusion des signaux vocaux de communication. Pour les contextes avec le couple de familiers et les deux mâles familiers, nous avons utilisé le même couple et les mêmes mâles familiers pour tous les individus testés, et il s'agissait des individus avec lesquels ils avaient été familiarisés auparavant.

Dans un premiers temps nous avons enregistré les réponses neuronales aux vocalisations lorsque les mâles étaient placés seuls dans la chambre sourde. Les jours suivants, les mâles étaient testés dans les différents contextes d'écoute, à raison d'un seul enregistrement par jour. L'ordre de passage dans chacun des contextes d'écoute était aléatoire pour chacun des mâles vivant en couple testés.

Analyse des enregistrements électrophysiologiques. Comme pour les précédentes études de ma thèse, les artefacts de mouvements (vol, sautillerment) des oiseaux ont été supprimés pour chacun des enregistrements électrophysiologiques. Durant les expériences, les oiseaux pouvaient communiquer ou faire différents bruits de vie dans leur cage. Par l'intermédiaire du microphone placé dans la chambre sourde, il était possible de contrôler si l'un de ces signaux parasite venait à recouvrir la vocalisation diffusée, ou bien à se trouver dans les 500 millisecondes avant ou après celle-ci. Si tel était le cas, comme il est impossible de savoir à

quoi correspondaient les réponses enregistrées (cris diffusés ou au signal parasite), les réponses à la vocalisation en question n'étaient pas prises en compte.

Avant d'examiner les réponses des neurones aux différents cris de mâles et de femelles, nous avons comparé l'activité spontanée des cellules enregistrées entre la condition où les mâles étaient seuls et le contexte où nous en avons enregistré le plus, soit en présence avec le 2 mâles familiers. Pour l'ensemble des cris de mâles et de femelles présentés nos analyses ne montrent aucune différence dans l'activité spontanée des neurones entre les conditions où les mâles étaient seuls ou placés en compagnie de deux mâles familiers ($p > 0,06$). Ensuite, pour mesurer et normaliser les réponses des neurones et pouvoir les comparer, nous avons calculé pour chaque signal le Z-Score moyen sur les 50 présentations. Quand les mâles sont isolés nous n'observons aucune différence dans les réponses des neurones entre le cri des deux femelles familières ou bien entre le cri des deux femelles inconnues ($F_{3,54} = 0,70$; $p = 0,55$). Aussi, pour chaque neurone, nous avons moyenné ensemble les valeurs des Z-Score pour les cris des deux femelles familières ainsi que pour les deux femelles inconnues. Nous avons également moyenné les réponses des deux cris de mâles familiers entre eux et également des deux cris de mâles inconnus (effet du type de cri, $F_{3,54} = 2,38$; $p = 0,08$). Bien que les réponses correspondent à deux vocalisations de femelles ou de mâles différents, en référence au chapitre 3 nous parlerons « du cri de la femelle familière » ou bien « du cri du mâle inconnu ».

Analyses statistiques. Pour chacun des mâles testés, nous avons comparé les réponses des cellules enregistrées lorsqu'ils étaient seuls ou placés dans trois contextes sociaux d'écoute différents. Cependant, tous les mâles n'ont pas pu être testés dans les 3 contextes, notamment à cause de la perte soit de l'oiseau expérimental, soit des animaux composant les différents en contextes. De ce fait, un nombre trop faible de neurones ne nous permet pas de comparer entre elles les réponses recueillies dans les trois contextes d'écoute. Aussi, nous n'avons pas pu tester la différence entre les situations où il y avait un seul ou deux congénères à côtés de l'individu testé.

Par un modèle linéaire général, nous avons cherché à déterminer l'effet du type de cri, pour savoir si les neurones répondent différemment aux cris de congénères, ainsi que l'effet du contexte pour savoir s'il y a un effet du contexte d'écoute sur les réponses des neurones. Enfin, nous avons cherché une interaction entre l'effet type de cri et l'effet du contexte afin de déterminer si les neurones ont répondu différemment aux différents cris de congénères selon que les mâles étaient seuls ou accompagnés.

4.3 Effet du contexte social sur les réponses

4.3.1 Aux cris de femelles

Durant nos expériences il fut indéniable que la présence de congénères a modifié le comportement des individus testés. Bien que les échanges vocaux étaient beaucoup moins fréquents que ceux observés au sein de l'animalerie (probablement en raison de l'appareillage de télémétrie porté par les sujets durant les tests), les comportements des individus étaient bien plus vigoureux et nombreux que lorsqu'ils étaient placés tous seuls dans la chambre sourde, notamment en ce qui concerne les déplacements au sein de la cage ou bien les mouvements de la tête en direction des congénères ou des enceintes. Outre l'impact sur le comportement des animaux, nous avons voulu savoir si le contexte d'écoute influence les réponses neuronales au sein du NCM aux cris de congénères.

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés aux effets du contexte social sur les réponses des neurones au cri des femelles (partenaire, familière et inconnue).

Tout d'abord, nous avons enregistré l'activité de 14 cellules chez 5 mâles différents lorsqu'ils étaient placés seuls dans la chambre sourde où en présence de leur femelle partenaire. Nos analyses ne montrent pas de différence significative dans la force des réponses aux trois types de cris de femelles (effet type de cri, $F_{2,26}=0,04$; $p=0,96$)(fig. 25A). En revanche, comme le montre la figure 26A, les réponses aux vocalisations sont plus faibles lorsque la femelle partenaire est présente que lorsque les mâles sont seuls (effet contexte, $F_{1,13}=16,44$; $p=0,001$). Toutefois, nous n'observons aucune interaction entre l'effet type de cri et l'effet du contexte d'écoute représenté par la femelle partenaire ($F_{2,26}=0,21$; $p=0,81$). Par conséquent, notre expérience ne montre pas que la présence de la femelle partenaire modifie les réponses des neurones vis-à-vis des vocalisations de femelles présentées.

Ensuite, nous avons comparé les réponses des neurones lorsque nos mâles sont mis en présence d'un couple d'individus familiers (mâle et femelle) par rapport aux réponses enregistrées lorsqu'ils sont seuls ($n=14$, chez 4 mâles en couple)(fig. 25B). Nos résultats ne montrent pas non plus de réponses différentes aux différents cris de femelles (effet type de cri, $F_{2,26}=2,79$; $p=0,08$). Encore une fois, les réponses enregistrées lorsque les mâles sont accompagnés d'un couple de familiar sont globalement moins fortes que celles enregistrées lorsque les mâles étaient seuls dans la chambre sourde (effet du contexte, $F_{1,13}=17,92$; $p=0,001$). Cependant, comparées à la situation où les mâles étaient seuls, nos analyses ne montrent pas que les neurones ont répondu différemment aux cris de femelles en présence d'un couple de familiers (effet type de cri X effet contexte, $F_{2,26}=0,52$; $p=0,60$).

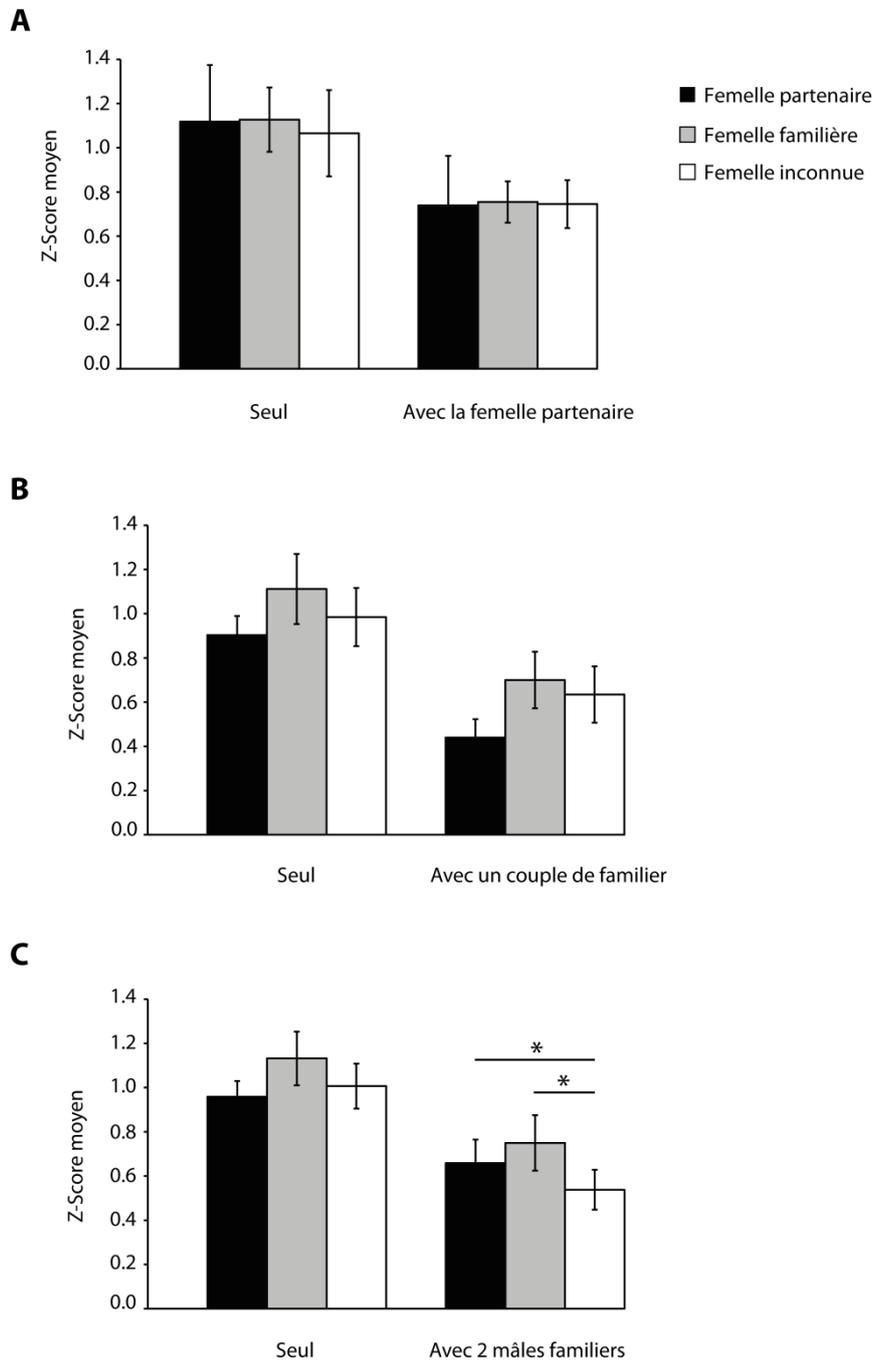


Figure 25 : Force des réponses au sein du NCM de mâles diamants mandarins lors de la présentation du cri de la femelle partenaire (noir), de la femelle familière (gris) et de la femelle inconnue (blanc). En (A), nous comparons la force des réponses aux cris de femelles lorsque le mâle est seul dans la chambre sourde de test et lorsqu'il est en présence de sa femelle partenaire. En (B), le mâle est accompagné d'un couple de familier et en (C) il est en compagnie de deux mâles familiairs.

Enfin nous avons enregistré l'activité de 18 neurones chez 5 oiseaux isolés et en présence de deux mâles familiers (fig. 25C). Pour cette population de neurones nous observons un effet du type de cri sur les réponses des neurones ($F_{2,34}=6,05$; $p=0,01$). Cet effet est dû au fait qu'en présence des deux mâles familiers, les réponses des neurones sont plus fortes pour le cri de la femelle partenaire ou de femelle familière que pour le cri de la femelle inconnue (Partenaire Vs. Inconnue, $F_{1,17}=4,79$; $p=0,04$; Familière Vs. Inconnue, $F_{1,17}=12,26$; $p=0,003$), alors que qu'il n'y a pas de différence dans les réponses aux trois type de cri lorsque les mâles sont isolés ($F_{2,14}=2,98$; $p=0,06$), ni même dans toutes les autres conditions ($p>0,09$).

Nos analyses montrent encore une fois qu'en contexte social les réponses sont moins fortes que lorsque les mâles sont isolés (effet contexte, $F_{1,17}=12,02$; $p=0,003$). Toutefois, nos résultats ne montrent pas que le contexte social composé de deux mâles familiers ait eu un impact sur la manière de répondre des neurones aux différents cris de femelles (effet type de cri X effet contexte, $F_{2,34}=1,81$; $p=0,18$).

4.3.2 Aux cris de mâles

Concernant les cris de mâles (familier et inconnu), nos analyses ne montrent aucune différence des réponses des neurones entre le cri du mâle familial et celui d'un mâle inconnu lorsque les mâles sont en présence de leur femelle partenaire ou seuls (effet type de cri, $F_{1,13}=0,50$; $p=0,49$)(fig. 26A). Nous observons toujours que les réponses enregistrées sont moins fortes lorsque le mâle est placé dans un contexte social que lorsqu'ils sont isolés, (effet du contexte, $F_{1,13}=13,34$; $p=0,03$). Par contre nos analyses ne montrent pas que les neurones du NCM répondent différemment aux cris de mâles entre la condition où ils sont seuls et celle où ils sont en présence de leur femelle partenaire (effet type de cri X effet contexte, $F_{1,13}=0,90$; $p=0,36$).

Si l'on compare maintenant les réponses des neurones entre le contexte social composé d'un couple de familial et la condition où les mâles sont isolés, nous observons tout d'abord qu'il y a un effet global du type de cri sur les réponses des neurones du NCM (effet type de cri, $F_{1,13}=6,74$; $p=0,002$). Cet effet est notamment dû au fait que chez les mâles isolés les neurones répondent plus fortement au cri du mâle inconnu ($F_{1,13}=6,97$; $p=0,02$) alors que chez les mâles en compagnie d'un couple il n'y a pas de différence dans les réponses aux trois types de cris ($F_{1,13}=1,54$; $p=0,24$)(fig. 26B).

De plus, les réponses des neurones aux cris de mâles sont plus fortes lorsque les mâles sont isolés que lorsqu'ils sont accompagnés du couple de familiers (effet contexte, $F_{1,13}=19,94$; $p=0,001$). Pourtant, nos analyses ne mettent pas en évidence que les neurones répondent différemment aux cris du mâle familial et du mâle inconnu entre les deux situations (effet type de cri X effet contexte, $F_{1,13}=3,19$; $p=0,10$).

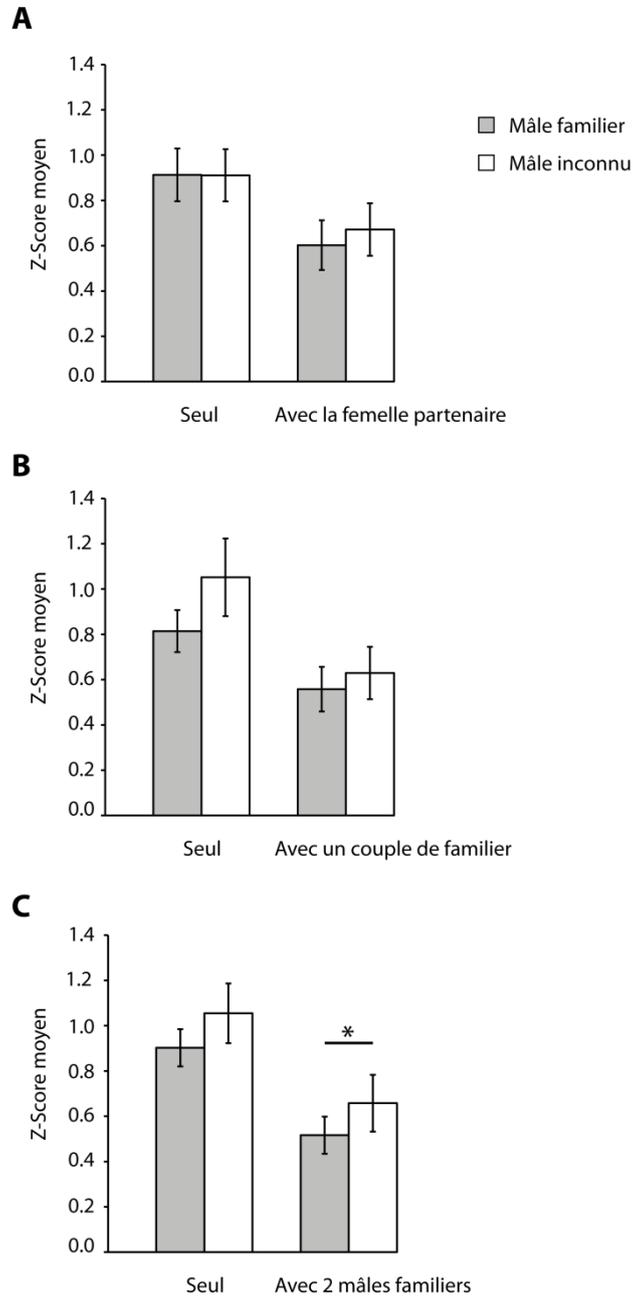


Figure 26 : Comparaison de la force des réponses des neurones du NCM chez les mâles entre la condition où ils sont seuls lors de la diffusion du cri du mâle familial(gris) et du mâle inconnu (blanc) et lorsqu'ils sont en présence de leur femelle partenaire (A), d'un couple de familiais (B) et enfin accompagnés de 2 mâles familiais (C).

Enfin, concernant le contexte d'écoute composé de deux mâles familiers, nous observons un effet global du type de cri sur les réponses neuronales au sein d NCM (effet type de cri, $F_{1,17}=5,99$; $p=0,03$)(fig. 26C). Encore une fois et effet est dû au fait que l'on compare les réponses des neurones obtenues dans deux conditions différentes. Bien que nos analyses révèlent un effet du contexte d'écoute sur la force des réponses par rapport à la situation où les mâles étaient seuls (effet contexte, $F_{1,17}=18,03$; $p=0,001$), nous n'observons aucune interaction sur les réponses des neurones entre l'effet type de cri et l'effet contexte ($F_{1,17}=0,02$; $p=0,89$).

4.3.3 Effet de la présentation des cris de distance pendant plusieurs jours

Comme on peut le voir sur les figures 25 et 26, les réponses des neurones aux cris de mâles et de femelles sont plus fortes chez les mâles vigiles enregistrés seuls que chez ces mêmes mâles placés dans un contexte d'écoute, et ce quel que soit le contexte. Dans notre étude nous avons enregistré l'activité des neurones pendant plusieurs jours, le premier jour correspond toujours à la condition où les mâles sont isolés, et ensuite chaque jour correspond à un contexte d'écoute différent (contrebalancé d'un oiseau à l'autre). La figure 27A montre l'évolution des réponses des neurones ($n=18$) aux cris de mâles et de femelle les 3 premiers jours des expériences. Nos analyses n'ont été faites que sur ces jours-là car certains mâles n'ont été testés que dans 2 contextes d'écoute différents sur les 3 possibles (donc 3 jours au total au lieu de 4 pour d'autres mâles). Sur ces 3 jours successifs, nos analyses montrent que les réponses aux cris de femelles diminuent sur plusieurs jours (effet jour, $F_{2,34}=15,37$; $p<0,0001$) et qu'il en était de même pour les cris de mâles (effet jour, $F_{2,34}=14,29$; $p<0,0001$)(fig. 27B).

Plus en détail, quel que soit le cri de distance considéré, mâle ou femelle, la diminution des réponses est importante entre le 1er et le 2ème jour (pour les cris de femelles, $p<0,005$; pour les cris de mâles, $p<0,01$). Alors qu'en revanche nos analyses montrent que les réponses ne diminuent pas entre le 2nd et le 3ème jour d'enregistrement (pour les cris de femelles, $p>0,36$; pour les cris de mâles, $p>0,70$).

Enfin, les neurones répondent avec la même amplitude aux différents cris de femelles (effet type de cri, $F_{2,34}=3,24$; $p=0,05$). En revanche, ils répondent plus aux cris des mâles inconnus qu'aux cris de mâles familiers (effet type de cri, $F_{1,17}=7,18$; $p=0,02$). Sur l'ensemble de nos enregistrements journaliers, cette différence entre les cris de mâle n'apparaît qu'au 3ème jour d'enregistrement (Familiers Vs. Inconnus, Jour 1, $F_{1,17}=3,60$; $p=0,07$; Jour 2, $F_{1,17}=0,82$; $p=0,38$; Jour 3, $F_{1,17}=4,86$; $p=0,04$). Cependant, il n'y a pas d'interaction entre la diffusion répétée des cris sur plusieurs jours et le type de cri, que ce soit pour les cris de femelles (effet type de cri X jours, $F_{4,68}=0,25$; $p=0,91$) ou pour les cris de mâles ($F_{2,34}=0,72$; $p=0,49$).

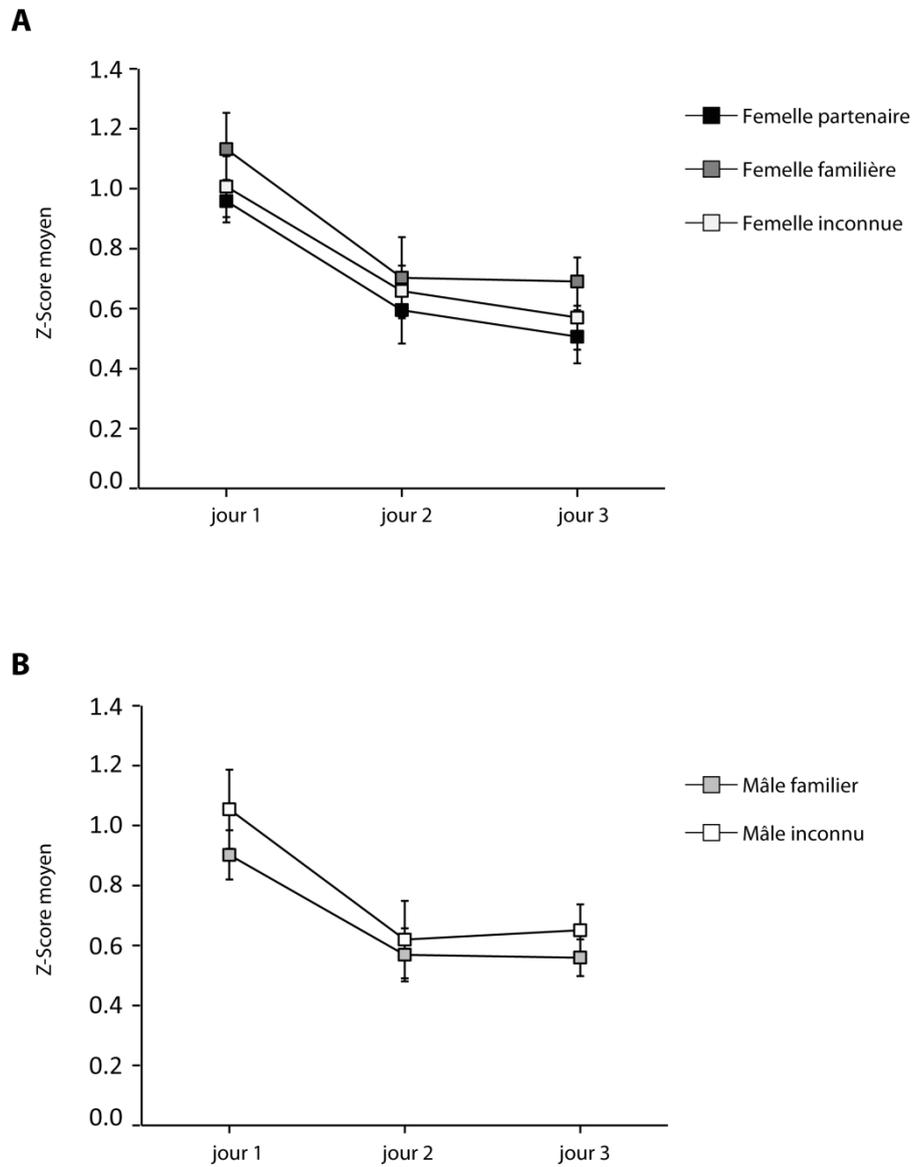


Figure 27 : Évolution de la force des réponses de 18 neurones enregistrés au sein du NCM sur 3 jours consécutifs. Que ce soit pour les cris de femelles (A) ou ceux de mâles (B) nous observons une diminution significative des réponses entre le 1er et le 2ème jour d'enregistrement.

Étant donné que l'ordre de passage dans les différents contextes était aléatoire pour chaque oiseau, l'effet jour sur les réponses qui est observé reflète bien l'habituation et non pas un effet du contexte par rapport à la situation où les mâles étaient isolés.

4.4 Discussion

Nos expériences ne mettent pas en évidence que le contexte d'écoute influence les réponses neuronales aux cris de congénères dans le NCM. Les études comportementales montrent que lorsqu'ils sont placés dans un contexte social d'écoute particulier que les mâles sont capables de discriminer les cris de femelles (Vignal et al., 2004; Perez et al., 2012). Pour une espèce sociale d'oiseaux chanteurs, l'isolation des individus est un facteur de stress augmentant le niveau d'hormones correspondant, comme la corticostérone (Apfelbeck, 2008). L'étude récente de Perez et al., (2012) montre que l'augmentation du taux de corticostérone diminue l'activité vocale des mâles ainsi que leur préférence comportementale entre deux cris de femelles lorsqu'ils sont placés en compagnie de deux congénères. Le stress peut être un facteur pouvant expliquer pourquoi, dans nos expériences, nous n'avons pas mis en évidence un effet du contexte social d'écoute sur les réponses des neurones du NCM. En effet, en plus de les attraper pour être placé dans la cage expérimentale, nos individus devaient être étroitement manipulés pour les équiper du système de télémétrie. Effectivement, nous avons remarqué lors de nos expériences que les mâles étaient toujours plus agités que les femelles. Ils se déplaçaient majoritairement plus en sautillant ou en volant, alors que les femelles restaient plus calmes au sol, ou sur le perchoir pour certaines. En outre, nous n'avons pu enregistrer que très peu de cellules dans les trois contextes d'écoute différents ce qui ne nous permet pas de comparer les réponses enregistrées dans les divers contextes d'écoute.

Certaines données de la littérature montrent que la présence d'un congénère a des effets sur les réponses auditives. Tout d'abord, George et al., (2011) ont montré que chez les étourneaux la vision d'un individu familier au moment de la diffusion de son chant provoquait une diminution des réponses auditives dans le champ L par rapport à la présentation du chant familier seul. Lors de nos expériences, dans certains cas, les oiseaux peuvent entendre le cri d'un congénère qui se trouve être présent et donc visible. Cependant, comme nous n'observons pas d'effet du contexte sur l'amplitude des réponses aux cris, la vision des congénères ne semble pas avoir d'effet sur les réponses des neurones du NCM. Cette différence entre nos résultats et ceux de George et al., peuvent d'une part être expliqués par le fait que les enregistrements n'ont pas été réalisés dans les mêmes régions auditives (champ L et NCM). D'autre part, il s'agit de deux études menées chez deux espèces d'oiseaux chanteurs sociaux différentes.

Ensuite, une autre étude montre que l'expression du gène *Zenk* est plus élevée chez un diamant mandarin auquel on diffuse des cris de distance et qui est entouré de congénères plutôt qu'à un mâle qui est isolé (Vignal et al., 2005). Nos résultats ne montrent pas d'augmentation de l'activité neuronale au sein du NCM lorsque les oiseaux sont placés en compagnie de leurs congénères. Mais cela peut être expliqué par notre procédure expérimentale qui nous a permis de mettre en évidence que la présentation sur plusieurs jours des cris provoque une diminution des réponses auditives au sein du NCM. Plus précisément cette diminution est très marquée entre le premier et le second jour de nos enregistrements. Elle se stabilise ensuite entre le second et le troisième jour de nos expériences. Aussi, il ne nous est pas possible de constater une augmentation de l'activité des neurones puisque nos enregistrements sur les mâles placés en contexte commençaient toujours le deuxième jour, lorsque les réponses commençaient à diminuer.

Nos résultats sur l'évolution des réponses sur les trois jours d'enregistrement sont en accord avec ceux décrits par d'autres études. Chew et al., avaient montré que la présentation de chants conspécifiques pouvait entraîner une baisse des réponses électrophysiologiques jusqu'à 48h après leur présentation, mais que passé ce délai, la présentation du même chant serait traité comme s'il s'agissait d'un nouveau chant (Chew et al., 1995, 1996b). Cependant, il faut noter que nous avons utilisé comme signaux de communication les cris de longue distance, alors que Chew et ses collaborateurs ont utilisé des chants, qui sont beaucoup plus longs. Cette différence met en évidence que la baisse des réponses électrophysiologiques n'est pas due à un épuisement des neurones car la longueur des signaux ne semble avoir aucun effet. En outre, nous avons présentés dans notre étude des cris de distance qui varient dans leur degré de familiarité pour les oiseaux testés. Nous avons donc examiné si l'évolution des réponses sur les trois jours d'enregistrement différait selon le type de cri. En effet, une étude a mis en évidence que l'habituation est beaucoup plus forte pour un chant inconnu que pour le chant du tuteur (Phan et al., 2006), or nous n'observons aucune différence dans l'évolution des réponses sur les trois jours entre les cris familiers (femelle partenaire, familière ou mâle familial) et ceux pour les cris de mâles ou de femelle inconnus. Là encore, cette différence peut provenir du fait que nous avons utilisé comme stimuli des cris de distance et non des chants.

Nos résultats montrent également que sur plusieurs jours d'enregistrement, des différences dans les réponses aux cris peuvent apparaître. Il serait donc intéressant de suivre un plus grand nombre de cellules sur plusieurs jours successifs afin de déterminer si cela peut mettre en évidence une différence dans les réponses des neurones aux différents cris.

Chapitre 5.

**Étude des propriétés
auditives des neurones du
NCM**

5.1 Introduction

Les neurones du NCM répondent aux cris de mâles et de femelles diamants mandarins. Mais comment sont encodées ces vocalisations au sein du NCM, en termes de paramètres ou de combinaison de paramètres acoustiques, est une question qui reste largement à être explorée.

Jusqu'à présent, peu d'études se sont intéressées aux propriétés auditives des neurones du NCM chez le diamant mandarin. Il a été seulement rapporté que les neurones du NCM chez le diamant mandarin répondaient à des sons artificiels qui couvrent une large bande de fréquence (Terleph et al., 2007).

Afin de déterminer à quoi sont sensibles les neurones d'une structure cérébrale, plusieurs approches méthodologiques peuvent être utilisées. La première, qui est l'approche la plus ancienne, consiste à utiliser des signaux acoustiques simples comme des sons purs, des bruits blancs modulés ou non en amplitude ou, plus récemment, des sons modulés en fréquence, dans le but de déterminer si les neurones répondent à ces signaux relativement simples. Suivant cette approche, il a été mis en évidence une tonotopie au niveau du NCM (Müller and Leppelsack, 1985). Une deuxième approche plus récente consiste à partir de réponses à un grand nombre de vocalisations qui sont complexes dans leur structure à rechercher si ces réponses sont dues à des caractéristiques communes à ces vocalisations. De cette façon, il est calculé le STRF (champ récepteur spectro-temporel) de chaque neurone. Cette approche a révélé qu'utiliser des sons artificiels même s'ils sont complexes peut ne pas conduire au même STRF que des vocalisations de l'espèce (Theunissen and Sen, 2000). Un STRF repose sur le principe d'intégration linéaire, c'est à dire que le neurone doit répondre d'autant plus que les paramètres auxquels il est sensible sont présents dans la vocalisation. Or, comme au-delà du champ L, les neurones pourraient réaliser une intégration non linéaire des informations acoustiques, ce que suggère une étude (Ribeiro et al., 1998; Sen et al., 2001), cette méthode ne nous semble pas adaptée pour étudier les propriétés auditives des neurones du NCM. Une autre méthode consiste à partir de vocalisations auxquelles le neurone répond et à modifier les différentes caractéristiques acoustiques de ces vocalisations une à une. Lorsque les signaux acoustiques sont complexes, la question qui se pose alors est de savoir quelle caractéristique acoustique modifier.

Cette dernière approche est utilisée en neurosciences de l'audition, mais elle l'est également en éthologie lorsqu'il s'agit de déterminer quelles sont les caractéristiques acoustiques d'un signal qui font que ce signal communique une information (comme l'espèce, le genre, le groupe, l'âge) et induit une réponse comportementale. Le point de départ de ces études est la caractérisation du signal acoustique sur la base des valeurs des différents paramètres acoustiques afin de déterminer lesquels de ces paramètres sont susceptibles de porter le message (Dhondt and Lambrechts, 1992). Une fois que cette analyse acoustique a été réalisée, il

est alors recherché comment l'animal répond à la vocalisation qui a été modifiée en ce qui concerne les paramètres acoustiques susceptibles de porter le message.

Les cris de distance des mâles et des femelles diamants mandarins ont fait l'objet de ce type d'étude (Vignal and Mathevon, 2011). Ce qu'a révélé cette étude, c'est le fait que certaines caractéristiques du cri de distance des mâles et de celui des femelles sont impliquées dans la reconnaissance du cri comme un cri de l'espèce. Ainsi, après un changement dans la distribution relative de l'énergie sur les différentes harmoniques (timbre), que ce soit d'un cri de mâle ou d'un cri de femelle, les individus répondent moins. D'autre part, pour provoquer une réponse, il semble que les cris doivent couvrir d'un point de vue fréquentiel une large bande de fréquence. En revanche, ne présenter qu'une partie du cri ou un cri qui ne présente pas de modulation de fréquence induit des réponses similaires à celles observées lors de la présentation du cri original. À partir de là, la question que nous nous sommes posée a été de savoir si les neurones du NCM étaient sensibles aux caractéristiques acoustiques qui sont impliqués dans la reconnaissance du cri d'un point de vue comportemental.

Dans cette partie de ma thèse, l'activité de neurones du NCM a été enregistrée chez des mâles et des femelles lors de la présentation d'un cri de mâle, d'un cri de femelle et des versions modifiées de chacun de ces deux cris. Comme cris de mâles et de femelles, nous avons utilisé le cri du partenaire sexuel et le propre cri de l'oiseau. Nous avons réalisé des modifications sur la structure en fréquence, la distribution relative de l'énergie sur les différentes harmoniques ainsi que sur la structure temporelle, afin d'étudier à quelles composantes du cri sont sensibles les neurones du NCM.

5.2 Techniques et méthodes

Sujets. Les expériences ont été réalisées chez des diamants mandarins adultes vivant en couple qui avaient donné naissance à au moins une portée d'oisillons. Les enregistrements électrophysiologiques ont été menés chez les mâles et femelles de 7 couples, éveillés et libres de leurs mouvements et chez les mâles et femelles de 11 couples, sous anesthésie.

Présentation des stimuli. Durant les expériences, chaque type de cri a été respectivement présenté 50 fois avec 1,5 seconde de silence entre chaque cri et 5 secondes de silence toutes les 10 répétitions du même cri et enfin 30 secondes de silence entre chaque version du cri. Les différents stimuli ont été présentés de manière aléatoire.

Les stimuli. Que ce soient chez les mâles et les femelles, nous avons présenté le cri du partenaire sexuel et les versions modifiées de ce cri ainsi que le propre cri de l'oiseau et des versions modifiées de ce cri. Les stimuli utilisés étaient donc différents d'un oiseau d'un sexe donné à un autre, mais les mêmes pour les individus d'un même couple. La figure 28 montre un

exemple de cri du mâle partenaire ainsi que de ces variantes modifiées pour une femelle vivant en couple et la figure 29 présente le cri de la femelle partenaire et ses variantes pour un des mâles utilisés.

Modification du spectre des fréquences du cri. Les cris de distance sont des signaux acoustiques constitués d'une fréquence fondamentale et de plusieurs harmoniques qui sont des multiples de la fréquence fondamentale. D'un point de vue comportemental, Vignal and Mathevon, 2011 ont montré que les diamants mandarins répondent à des stimuli composés à partir des cris si ceux-ci couvrent une large bande de fréquence, même si la première harmonique n'est pas présente. Afin de savoir si les neurones du NCM répondent de la même façon que la première harmonique soit présente ou pas dans le cri, nous avons décalé le spectre fréquentiel à l'aide du logiciel Avisoft SasLab Pro (Avisoft Bioacoustics, Allemagne) de la valeur de la fréquence fondamentale ou le double de cette valeur. Nous avons appelé ce cri, « Shift Fréquence » (fig. 28A, 29A).

Pour un certain nombre de cellules, nous avons également présenté un signal constitué d'une seule harmonique, celle qui est produite avec le plus d'énergie et qui se situe entre 4 et 5 KHz (cri appelé « Sans Harmoniques »)(fig. 28A, 29A). D'un point de vue comportemental, les mâles et les femelles ne répondent pas à ce type de stimulus (Vignal and Mathevon, 2011).

Néanmoins, ces signaux modifiés, Shift Fréquence et Sans Harmoniques possèdent la même structure temporelle que celle des cris non modifiés en ce qui concerne les modulations d'amplitude et de fréquence enveloppe, les modulations de fréquence et la durée.

Modification du timbre du cri. Dans les cris des diamants mandarins, l'énergie n'est pas répartie de façon similaire sur les différentes harmoniques qui les composent, ce qui donnerait un timbre au cri (Lohr and Dooling, 1998). Ce sont les harmoniques qui sont entre 3 et 5 kHz qui ont le plus d'énergie. D'après Vignal and Mathevon, 2011, changer la répartition relative de l'énergie sur les différentes harmoniques affecte les réponses des neurones qui sont moindres que celles obtenues lors de la présentation du cri original.

Afin de savoir si la réponse des neurones du NCM dépend de cette répartition relative de l'énergie sur les différentes harmoniques, nous avons modifié cette répartition en utilisant le logiciel Praat (Praat, <http://www.fon.hum.uva.nl/praat/>) de façon à ce que ce soient les harmoniques entre 3,5 et 6,5 kHz qui soient les plus accentuées (soit un shift de l'énergie sur les harmoniques plus hautes en fréquence)(fig. 28B, 29B). Nous avons appelé ces signaux « timbre modifié », et dans leur cas, la structure en fréquence et le décours temporel des cris ne sont pas affectés (fig. 30).

Modification de l'enveloppe du cri. Afin de savoir si les neurones du NCM sont sensibles aux variations temporelles de l'intensité du cri, nous avons supprimé les modulations d'amplitude avec le programme Syntana (Aubin, 1994). Ainsi dès le début du cri, que nous avons

appelé « NoAM », l'amplitude est maximale et elle le reste pendant toute la durée du cri. Ce type de modification affecte aussi la répartition relative de l'énergie sur les différentes harmoniques (fig. 28B, 29B). Cela met relativement plus d'énergie sur les harmoniques qui avaient moins d'énergie dans le cri original.

Séparation des différentes parties du cri. Lorsqu'un signal de communication est présenté, on peut se demander si c'est la totalité du signal qui est nécessaire pour obtenir une réponse comportementale ou si une partie seulement du signal suffit ou si, au contraire, l'information n'est portée que par une partie du signal. Dans les cris de mâles, les fréquences des différentes harmoniques montrent dans un premier temps une modulation montante (segment initial appelé FM montante) puis une modulation descendante (segment final appelé FM descendante). Comme l'étude de Vignal & Mathevon, 2011 a montré que les femelles ne répondent pas comportementalement au segment initial du cri du mâle mais répondent au segment final, nous avons voulu savoir si les neurones du NCM, et particulièrement chez les femelles, présentaient ce type de préférence dans leurs réponses. Dans ce but, nous avons découpé le cri en deux parties : le segment initial et le segment final et présenté séparément ces deux segments (fig. 28C).

Les cris de femelles, au contraire, ne montrent aucune modulation de fréquence, hormis au début du cri pendant une courte durée. Nous avons voulu savoir si les réponses des neurones du NCM requéraient l'ensemble du cri ou si, au contraire, la partie non modulée en fréquence (appelée Plateau) induisait des réponses similaires à celles du cri non modifié (fig. 29C).

Autre stimulus auditif. Un bruit blanc qui couvrait la bande de fréquence des cris et non modulé en amplitude a également été présenté à un certain nombre de neurones enregistrés chez les femelles afin d'évaluer comment les neurones répondent à des stimuli qui n'ont pas de structure en fréquence.

Enregistrements électrophysiologiques et analyse des données. Les enregistrements électrophysiologiques ont été réalisés comme décrit dans le chapitre 2. Chez un des mâles et une des femelles vigiles, une double implantation a été réalisée, avec un écart de plus de 1000 μm entre les pointes des deux électrodes. Comme dans le chapitre 3, les électrodes ont été implantées au niveau du NCM dorsal.

Afin d'évaluer les réponses auditives à la présentation des stimuli, nous avons quantifié le taux d'activité moyen pendant la durée du stimulus et les 30 ms qui suivaient, puis à partir des données nous avons calculé le Z-Score. Les réponses des neurones du NCM à chacune de ces modifications ont été comparées aux réponses au cri non modifié en utilisant un t de Student.

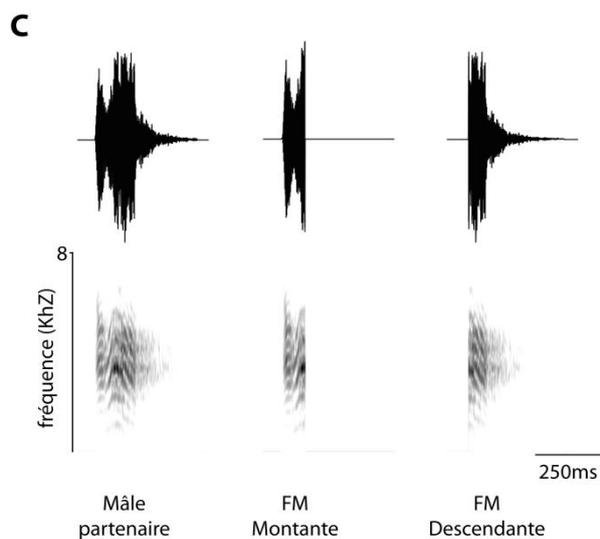
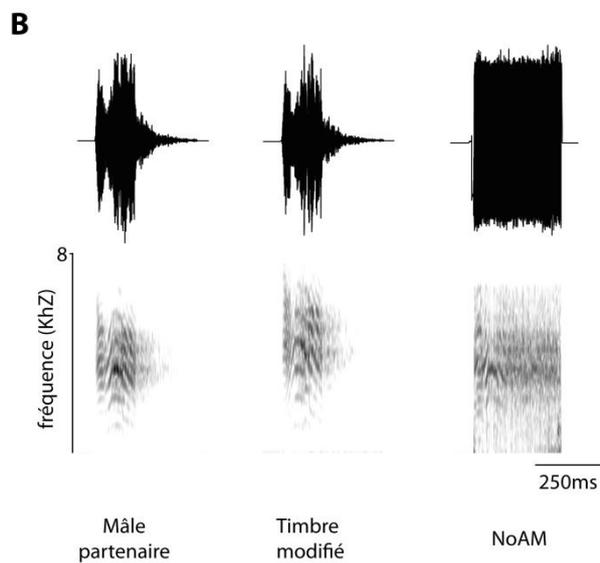
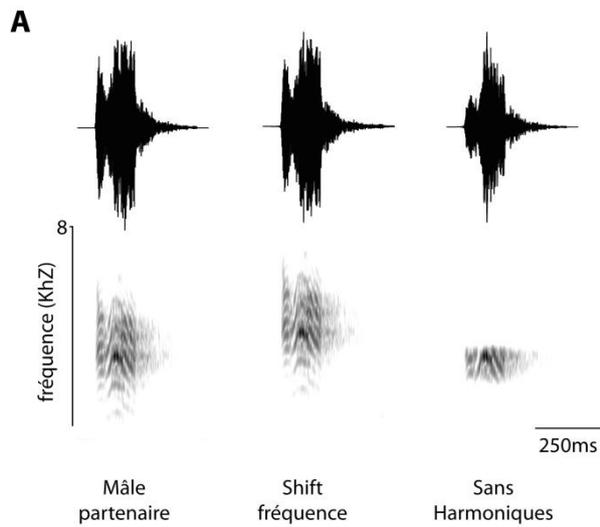


Figure 28 : Exemple de cri d'un mâle et des versions modifiées de ces cris. La partie supérieure des figures représente l'enveloppe du cri et la partie inférieure le spectrogramme avec l'énergie représentée en niveaux de gris. En (A) sont représentés la version Shift fréquence, qui correspond au cri du partenaire dont le cortège d'harmoniques est décalé en fréquence de façon à qu'il n'y ait pas la première harmonique et la version Sans Harmoniques qui correspond à l'harmonique présente dans la gamme de fréquence comprise entre 4 et 5kHz seulement. En (B), il s'agit de la version Timbre modifié correspondant à la version dont la répartition d'énergie sur les différentes harmoniques a été changée. Le cri NoAM représente le cri du partenaire sans modulations d'amplitude (voir enveloppe). Dans un cri de mâle (C), le début du cri correspond à une modulation de fréquence montante (FM Montante), alors que la fin du cri est caractérisée par une modulation de fréquence descendante (FM Descendante). Ces deux parties ont été présentées séparément.

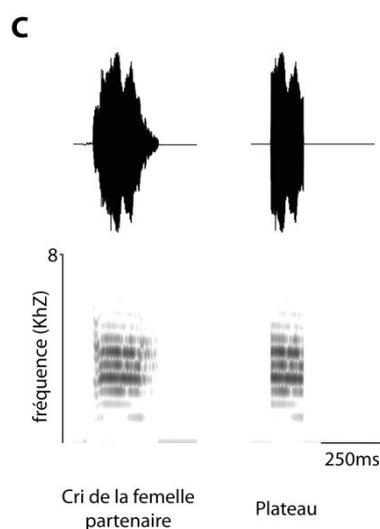
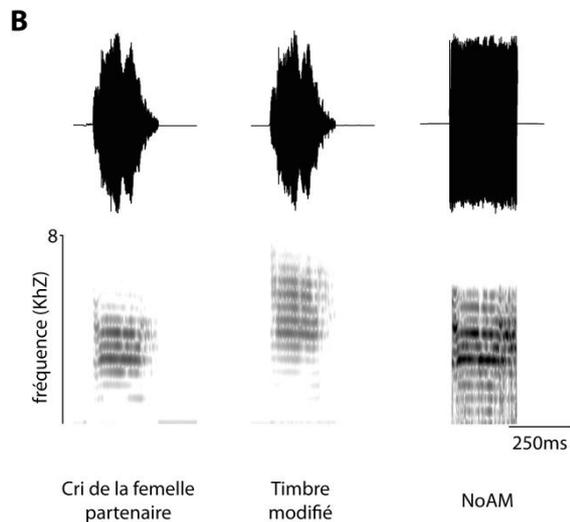
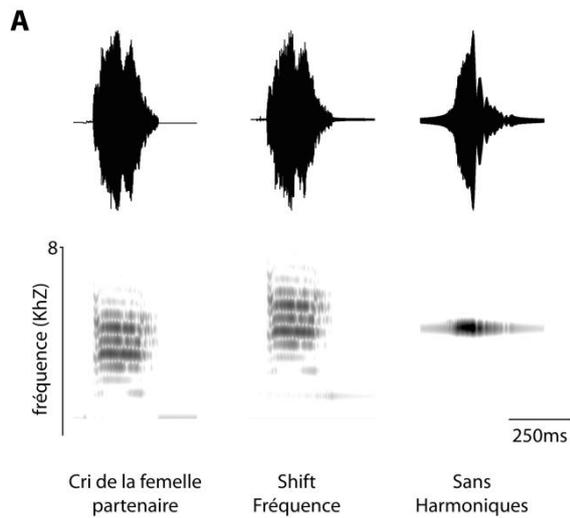


Figure 29 : Exemple de cri d'une femelle (A) et des versions modifiées de ces cris. Pour un couple d'oiseaux, ce cri de femelle représente le cri du partenaire sexuel pour le mâle et le propre cri de l'oiseau pour la femelle. En (A), sont représentées les versions du cri dont le spectre en fréquence a été modifié, la version Shift Fréquence correspond au cri du partenaire dont le cortège d'harmoniques est décalé en fréquence de façon à qu'il n'y ait pas la première harmonique. Le cri Sans Harmoniques correspond à l'harmonique présente dans la gamme de fréquence comprise entre 4 et 5kHz seulement. En (B) sont représentées le cri original et ses versions dont les modifications ont changé le déroulé temporel. La version Timbre modifié correspond à la version dont la répartition d'énergie sur les différentes harmoniques a été changée. Le cri NoAM représente le cri du partenaire sans modulations d'amplitude (voir enveloppe). Enfin, en (C), on peut voir le cri original de la femelle partenaire et à sa droite seulement la partie stable en fréquence de celui-ci (Plateau) qui a également été présentée.

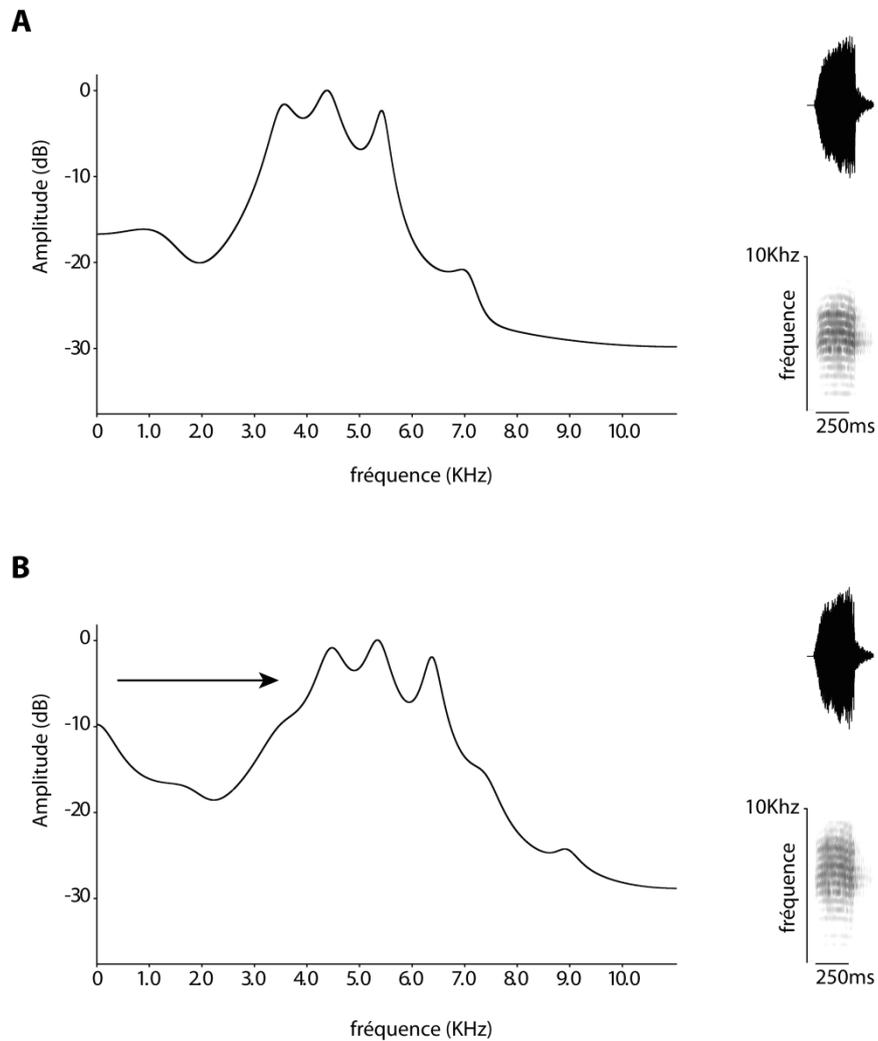


Figure 30 : Exemple de spectre fréquentiel (répartition de l'énergie mesurée en dB sur les différentes fréquences des harmoniques, avec un lissage par la méthode LCP : Applying Linear Predictive Coding) du cri du mâle partenaire original d'une femelle vivant en couple (A). La modification de la répartition de l'énergie, appelée timbre (B), a pour but de décaler l'énergie (flèche) d'une harmonique sur celle située juste au-dessus en fréquence. Comme on peut le voir sur la droite de la figure, la modification timbre ne change pas la structure en fréquence du cri.

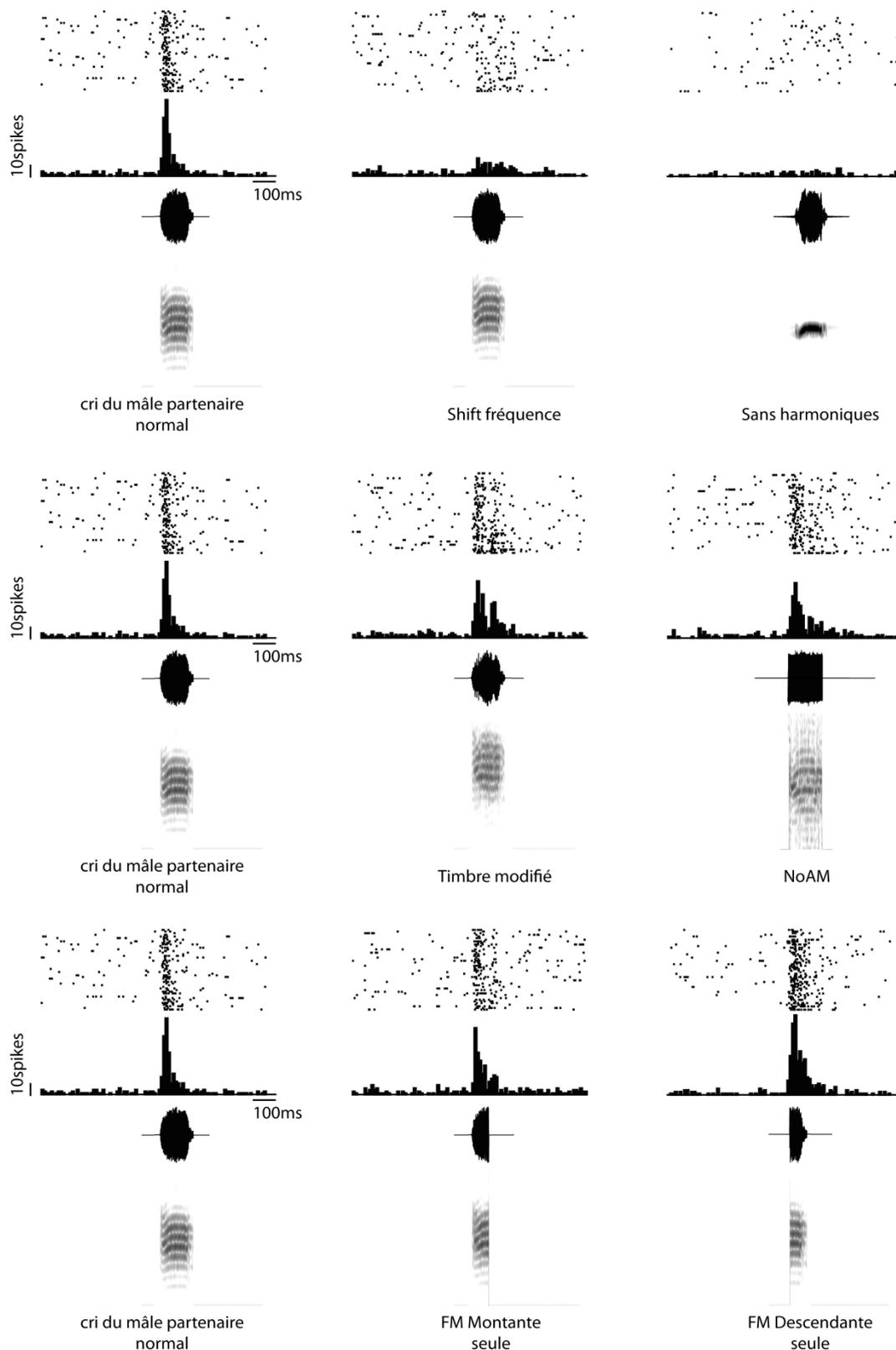


Figure 31 : Réponse d'une cellule du NCM d'une femelle au cri de son mâle partenaire ainsi qu'à toutes ses versions modifiées. La 1ère ligne représente les modifications du spectre en fréquence du cri du mâle partenaire, la 2nde ligne, les modifications de la répartition en énergie. Enfin, la 3ème ligne représente le cri du mâle ainsi que le premier segment (FM Montante) et le second segment (FM Descendante) qui ont été diffusés séparément.

Afin de pouvoir comparer les réponses à une partie du cri par rapport à celles obtenues lorsque cette partie est incluse dans le cri, nous avons calculé l'activité neuronale sur les mêmes durées exactement. Le début de la période d'analyse débutait 30 ms après le début de la partie du cri considérée (pour tenir compte de latence des réponses neuronales).

5.3 Résultats chez les femelles

Chez les femelles vigiles, un total de 40 cellules a été isolé à partir des enregistrements multi-unitaires (en moyenne $2,6 \pm 0,03$ neurones par site). Chez les femelles sous anesthésie, c'est l'activité de 89 neurones qui a été recueillie. Ces 129 neurones ont été enregistrés lors de la présentation du cri du partenaire (126 neurones du propre cri de l'oiseau). Comme aucune différence significative n'a été observée dans les réponses des neurones au cri du partenaire ou au propre cri de l'oiseau entre les femelles anesthésiées et les femelles vigiles ($p > 0,64$ dans les deux cas), nous avons regroupé l'ensemble des réponses recueillies. Certains de ces neurones ont été testés avec l'ensemble des cris. La figure 31 donne un exemple de réponse d'un neurone au cri du mâle partenaire ainsi qu'à toutes ses versions modifiées. D'autres n'ont été testés qu'avec certains des cris modifiés, ou pour des raisons de qualité d'enregistrement, nous n'avons pas pu analyser les réponses à certains cris.

Que ce soit lors de la présentation du cri du mâle partenaire ou du propre cri de la femelle chez laquelle l'enregistrement était réalisé, la plupart des cellules ont montré une augmentation de leur activité. Sur les 126 cellules testées avec ces deux cris, 116 cellules ont un Z-Score positif pour le cri du partenaire et 116 pour le propre cri de l'oiseau. De plus, lorsqu'on compare les réponses obtenues entre les deux cris, aucune différence significative n'est observée (Z-Score \pm écart-type, Partenaire Vs. BOC, $0,83 \pm 0,07$ Vs. $0,84 \pm 0,08$; $t_{125} = -0,18$; $p = 0,86$).

5.3.1 Réponses aux cris modifiés en fréquence

Une des modifications que nous avons réalisée a consisté à décaler le spectre des fréquences. Nos enregistrements ont montré qu'une telle modification du cri du partenaire affecte l'amplitude des réponses des neurones ($n = 77$). En effet, bien que la population de neurones montre des réponses à ce cri, ces réponses sont significativement moins fortes que celles induites par le cri original (Partenaire Vs. Shift Fréquence, $0,86 \pm 0,07$ Vs. $0,64 \pm 0,06$; $t_7 = 4,48$; $p < 0,0001$). Un total de 51/77 neurones répondent plus au cri du partenaire qu'au cri modifié (fig. 32A). Ensuite, décaler le spectre des fréquences du propre cri de la femelle induit des réponses dont l'amplitude est moins importante, la différence observée dans les réponses avec le cri original n'est pas significative (BOC Vs. Shift Fréquence, $0,77 \pm 0,08$ Vs. $0,65 \pm 0,08$;

$n=39$; $t_{38}=1,42$; $p=0,16$)(fig. 32B). Globalement, les neurones du NCM apparaissent sensibles au spectre des fréquences des cris et à l'absence de la première harmonique.

La suppression du cortège d'harmoniques des vocalisations en ne gardant que celles sur laquelle il y a le plus d'énergie s'accompagne d'une absence de réponses de la population globale des neurones que nous avons enregistré (Partenaire Vs. Sans Harmoniques, $0,90 \pm 0,10$ Vs. $0,002 \pm 0,06$; $n=72$; $t_{71}=7,16$; $p<0,0001$)(fig. 33A).

Cependant, on observe que certains neurones montrent une inhibition de leur activité lorsque le cri sans harmonique est présenté, comme cela avait été décrit chez des mâles diamants mandarins vigiles lors de la présentation de sons purs (Stripling et al., 1997). Un total de 32/72 neurones ont des valeurs négatives du Z-Score lorsque le cri Sans Harmoniques est présenté alors que seulement 8/72 ont de telles valeurs lors de la présentation du cri du partenaire (fig. 33B).

De même, présenter une seule harmonique du propre cri de l'oiseau n'induit pas les réponses obtenues avec le cri original (BOC Vs. Sans Harmoniques, $0,90 \pm 0,12$ Vs. $-0,10 \pm 0,07$; $n=72$; $t_{71}=7,48$; $p<0,0001$)(fig. 33C). On observe également qu'environ la moitié des neurones montrent une inhibition de leur activité lors de ce cri (Z-Score négatif, 5/72 Vs. 37/72)(fig. 33D).

5.3.2 Réponses aux cris dont le timbre a été modifié

Modifier le timbre affecte également les réponses des neurones. En effet, lorsque l'on présente le cri du mâle partenaire dont le timbre a été modifié, nous observons une diminution significative de l'amplitude des réponses par rapport à celle évoquée par le cri original ($0,79 \pm 0,06$ Vs. $0,70 \pm 0,05$; $n=127$; $t_{126}=2,17$; $p=0,03$)(fig. 34A).

De la même façon, une modification de la répartition d'énergie sur les différentes harmoniques du propre cri de l'oiseau induit une baisse de l'amplitude des réponses (BOC Vs. Timbre modifié, $0,78 \pm 0,06$ Vs. $0,66 \pm 0,05$; $n=124$; $t_{123}=2,49$; $p=0,01$)(fig. 34B).

5.3.3 Réponses aux cris sans modulation d'amplitude

Supprimer les variations d'amplitude du cri du mâle partenaire ou du propre cri de la femelle (cris NoAM) n'affecte pas l'amplitude des réponses des neurones par rapport aux cris des mâles partenaires non modifiés (Partenaire Vs. NoAM, $0,82 \pm 0,07$ Vs. $0,85 \pm 0,06$; $n=103$; $t_{102}=-0,53$; $p=0,60$; BOC Vs. NoAM, $0,78 \pm 0,11$ Vs. $0,82 \pm 0,09$; $n=51$; $t_{50}=-0,54$; $p=0,59$)(fig. 35A, 35B).

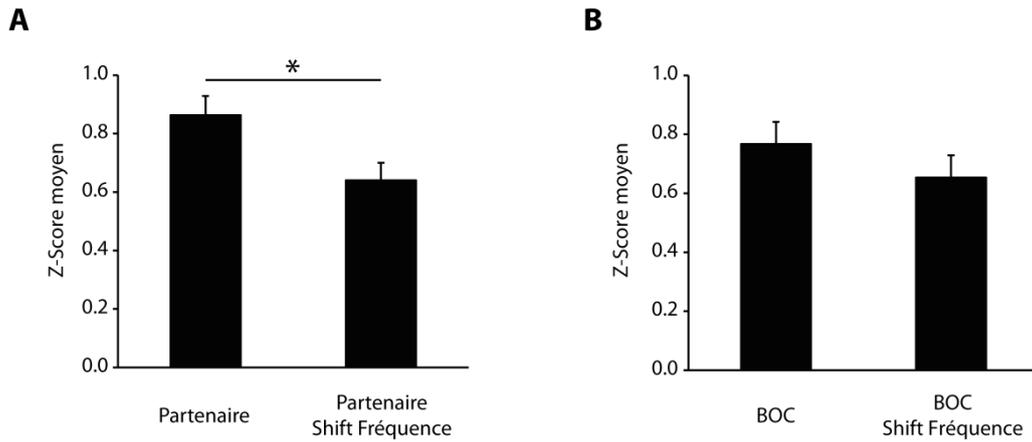


Figure 32 : Chez les femelles, le décalage du spectre fréquentiel des cris diminue significativement les réponses moyennes des neurones au cri du mâle partenaire (A) mais pas à leur propre cri (B).

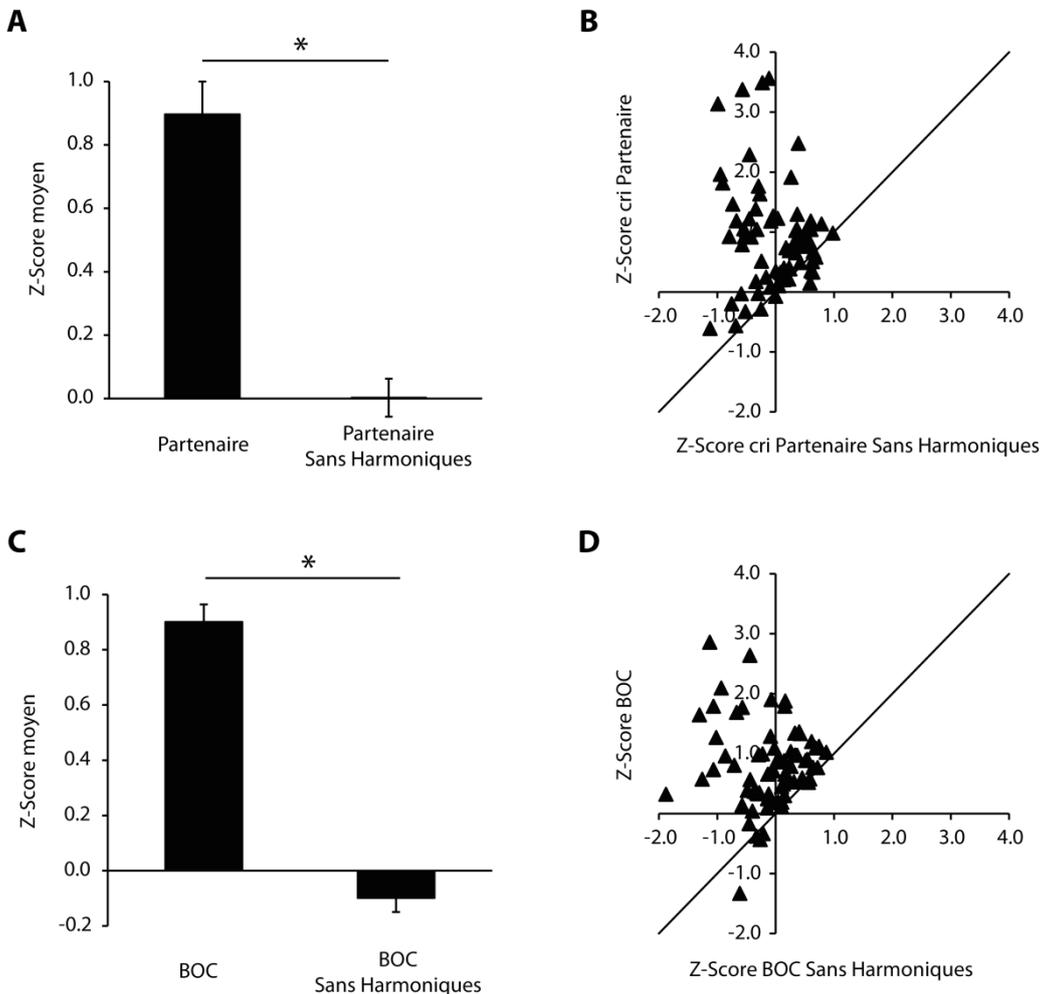


Figure 33 : Chez les femelles, la suppression des harmoniques du cri de leur mâle partenaire (A) ou de leur propre cri (C) entraîne une forte baisse des réponses au sein du NCM. Si l'on compare les réponses pour chaque cellule entre la version modifiée des cris et l'originale, on peut voir que quasiment la totalité des cellules ne répondent pas aux versions Sans Harmoniques (B,C).

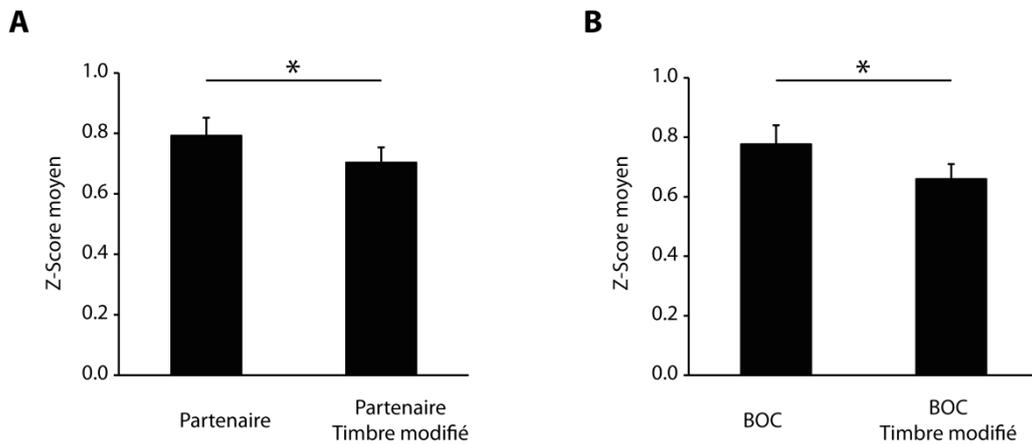


Figure 34 : La modification du timbre du cri du mâle partenaire (A) et du propre cri des femelles (B) provoque une diminution significative des réponses neuronales au sein du NCM.

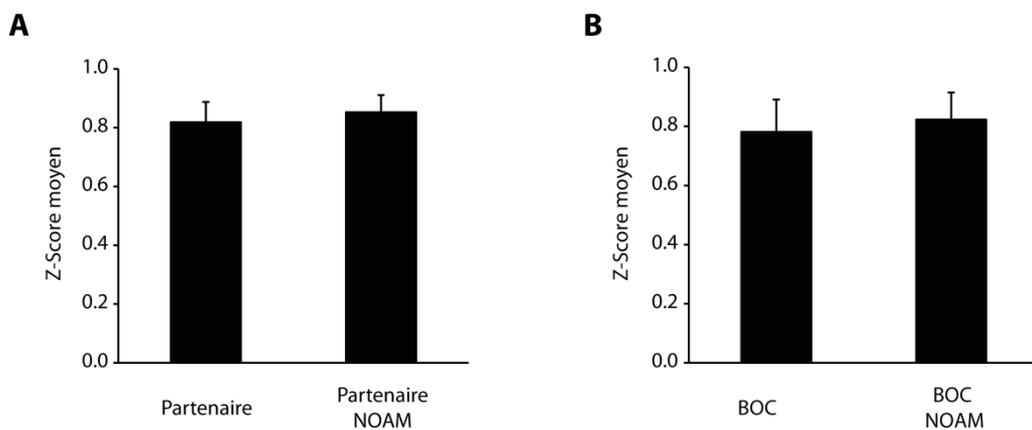


Figure 35 : La modification de l'enveloppe des cris (en la supprimant) ne change pas les réponses des neurones par rapport à la version originale du cri du mâle partenaire (A) et du propre cri des individus (B).

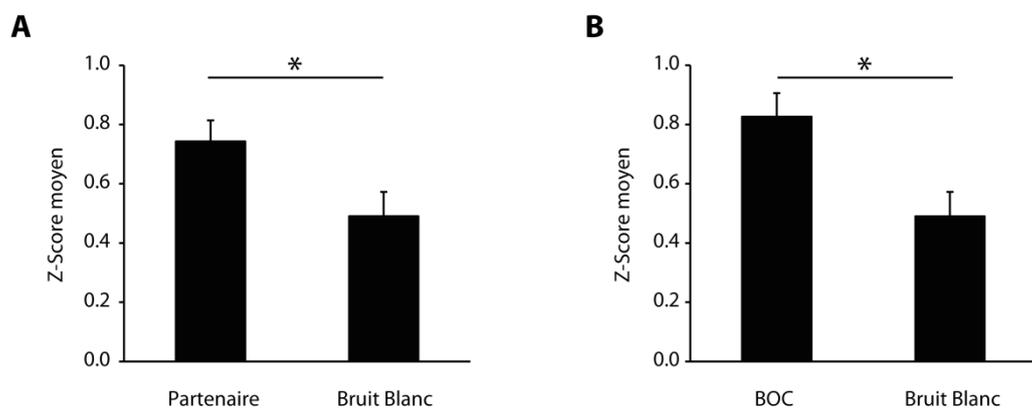


Figure 36 : Les neurones répondent plus fortement à des vocalisations qu'à des bruits blancs bien qu'ils recouvrent la même gamme de fréquence que les cris.

En revanche, la présentation d'un bruit blanc non modulé en amplitude s'accompagne d'une baisse significative de l'amplitude des réponses, que l'on compare les réponses obtenues au bruit blanc avec celles obtenues pour le cri du partenaire (Partenaire Vs. Bruit blanc, $0,74 \pm 0,07$ Vs. $0,49 \pm 0,08$; $n=51$; $t_{50}=2,70$; $p=0,01$)(fig. 36A) ou avec celles obtenues pour le propre cri de la femelle (BOC Vs. Bruit blanc, $n= 51$; $0,83 \pm 0,08$ Vs. $0,49 \pm 0,08$, $t_{50} =3,03$; $p=0,004$)(fig. 36B).

5.3.4 Réponses aux différentes parties des cris

Nous avons découpé le cri du mâle partenaire en deux parties de façon à n'avoir que le segment initial, constitué d'une modulation de fréquence montante, ou que le segment final constitué d'une modulation de fréquence descendante. Lorsque l'on présente ces deux parties du cri séparément, nos enregistrements montrent que les neurones du NCM répondent aussi fortement à la FM Montante du début du cri qu'à la FM Descendante de la fin du cri (FM Montante seule Vs. FM Descendante seule, $0,60 \pm 0,06$ Vs. $0,61 \pm 0,07$; $n=129$; $t_{128}=-0,05$; $p=0,96$)(fig. 37A). De plus, il n'y a pas plus de neurones qui répondent plus à un type de modulation qu'à l'autre, ce qui indique que la population de neurones du NCM ne montre pas une préférence pour un type de modulation de fréquence (fig. 37B).

Lorsque l'on analyse les réponses à ces deux segments lorsqu'ils sont inclus dans le cri, c'est à dire que le cri n'est pas découpé, on observe que les neurones répondent plus à la première partie du cri, la FM Montante, qu'à la seconde partie, la FM Descendante (FM Montante dans le cri Vs. FM Descendante dans le cri, $0,66 \pm 0,05$ Vs. $0,46 \pm 0,06$; $t_{128}=4,00$; $p=0,0001$)(fig. 37A). De même, en accord avec les résultats précédents, les neurones répondent moins à la partie constitué de la FM Descendante lorsque celle-ci est incluse dans le cri, que lorsque cette partie est présentée seule (FM Descendante dans le cri Vs. FM Descendante seule, $0,46 \pm 0,06$ Vs. $0,61 \pm 0,07$; $n=129$; $t_{128}=-2,14$; $p=0,03$). Une analyse visuelle du pattern de réponses des neurones permet d'expliquer ces résultats. Comme le montre la figure 31, les neurones répondent à la présentation d'un cri par un pic phasique qui dure plusieurs dizaines de millisecondes qui est suivi dans la plupart des cas d'une activité soutenue qui est moindre que celle du pic. Cette forte augmentation phasique s'observe quel que soit le type de modulation de fréquence que le cri soit constitué de FM montante ou descendante.

Si les neurones du NCM chez les femelles n'apparaissent pas être plus sensibles aux FM montantes qu'aux FM descendantes, la question qui se pose alors est de savoir si, et dans quelle mesure, ces neurones répondent lorsque le cri n'est pas composé de modulation de fréquence. Pour répondre à cette question, nous avons présenté le propre cri de la femelle sans la courte partie initiale dans laquelle les fréquences sont modulées. La présentation de ce stimulus que

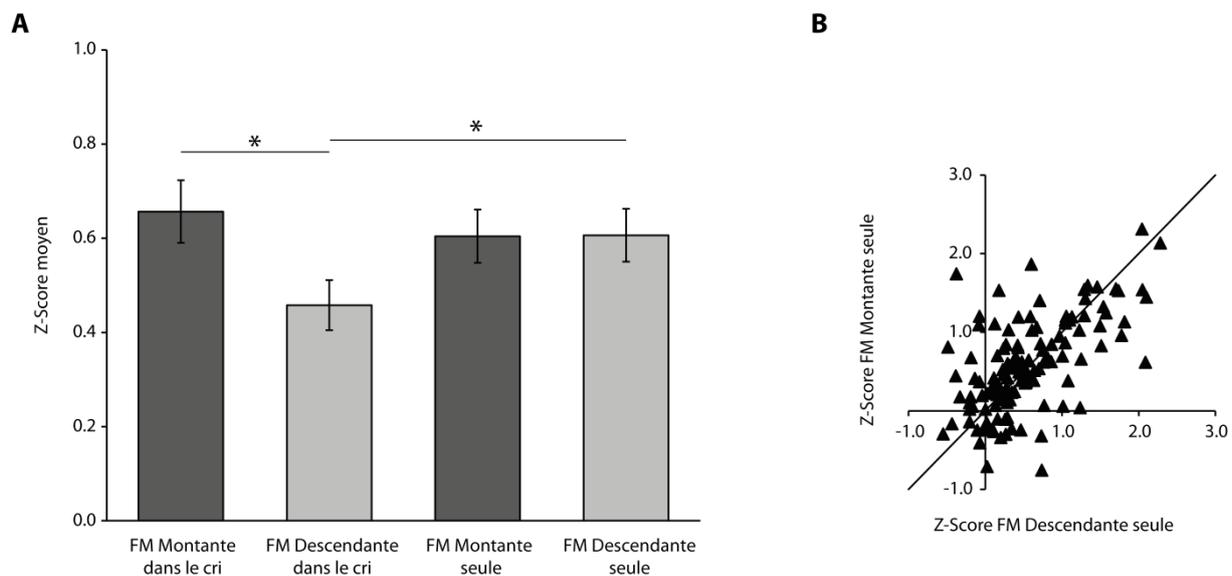


Figure 37 : Les neurones répondent plus à la partie initiale (FM Montante) qu'à la seconde partie (FM Descendante) du cri du mâle partenaire lorsque celui-ci est présenté entier, alors que nous n'observons aucune différence dans l'amplitude des réponses aux deux parties du cri présentées séparément (A). (B) Comparaison des réponses des cellules entre les deux parties du cri du mâle partenaire diffusées séparément.

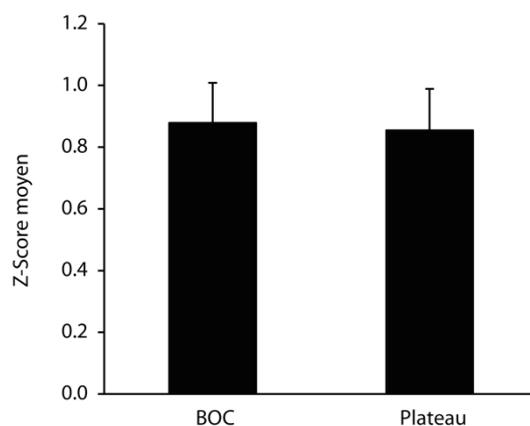


Figure 38 : Les neurones du NCM répondent avec la même amplitude au propre cri des femelles qu'au Plateau stable en fréquence contenu dans ce dernier

nous avons appelé Plateau évoque des réponses dont l'amplitude ne diffère pas de celle évoquée par le cri original (BOC Vs. Plateau, $0,88 \pm 0,13$ Vs. $0,85 \pm 0,13$; $n=65$; $t_{64}=0,40$; $p=0,69$)(fig. 38).

De plus, les stimuli FM Montante et FM Descendante n'évoquent pas des réponses plus importantes que le Plateau (FM Montante Vs. Plateau, $0,72 \pm 0,09$ Vs. $0,75 \pm 0,09$; $t_{63}=-0,54$; $p=0,59$; FM Descendante Vs. Plateau, $0,82 \pm 0,08$ Vs. $0,75 \pm 0,09$; $t_{63}=0,86$; $p=0,39$). Ces résultats suggèrent donc que les neurones sont peu sensibles aux modulations de fréquence des cris.

5.4 Résultats chez les mâles

Nous avons présenté à chacun des mâles en couple plusieurs versions modifiées du cri de distance de leur femelle partenaire ou de leur propre cri. La figure 39 montre un exemple de réponses évoquées par un neurone du NCM d'un mâle lors de la présentation du cri de la femelle partenaire et de ses différentes versions.

Dans un premier temps nous avons comparé les réponses des neurones des mâles anesthésiés et vigiles. Comme nous n'avons pas observé de différence dans les réponses au cri du partenaire ou au propre cri du mâle entre les deux groupes ($p>0,15$ dans les deux cas), nous avons regroupé les réponses des mâles vigiles et anesthésiés pour la suite de nos analyses.

Un total de 50 neurones a été testé avec le cri de la femelle partenaire et 54 neurones avec le propre cri du mâle. La plupart des neurones montrent une augmentation de leur activité lors de la présentation de ces cris. Seuls 2/50 et 4/54 neurones ont un Z-Score négatif. Enfin, 42 neurones ont été testés avec à ces deux cris. Aucune différence significative n'a été observée dans les réponses à ces deux cris ($p=0,68$).

5.4.1 Réponses aux cris modifiés en fréquence

Décaler le spectre des fréquences du cri de la femelle partenaire affecte l'amplitude des réponses des neurones enregistrés dans le NCM ($n=30$). Mais contrairement à ce qui avait été observé chez les femelles, les réponses à ce cri sont bien plus fortes que celles induites par le cri non modifié (Z-Score \pm écart-type, Partenaire Vs. Shift Fréquence, $0,74 \pm 0,14$ Vs. $0,99 \pm 0,17$; $t_{29}=-2,53$; $p=0,02$)(fig. 40A). Un total de 23/30 neurones répond plus au cri du partenaire modifié qu'au cri non modifié (fig. 40B). En revanche, décaler le spectre des fréquences du propre cri du mâle chez lequel l'enregistrement est effectué n'affecte pas l'amplitude des réponses (BOC Vs. Shift Fréquence, $0,78 \pm 0,12$ Vs. $0,67 \pm 0,11$; $n=34$; $t_{33}=0,93$; $p=0,36$)(fig. 40C).

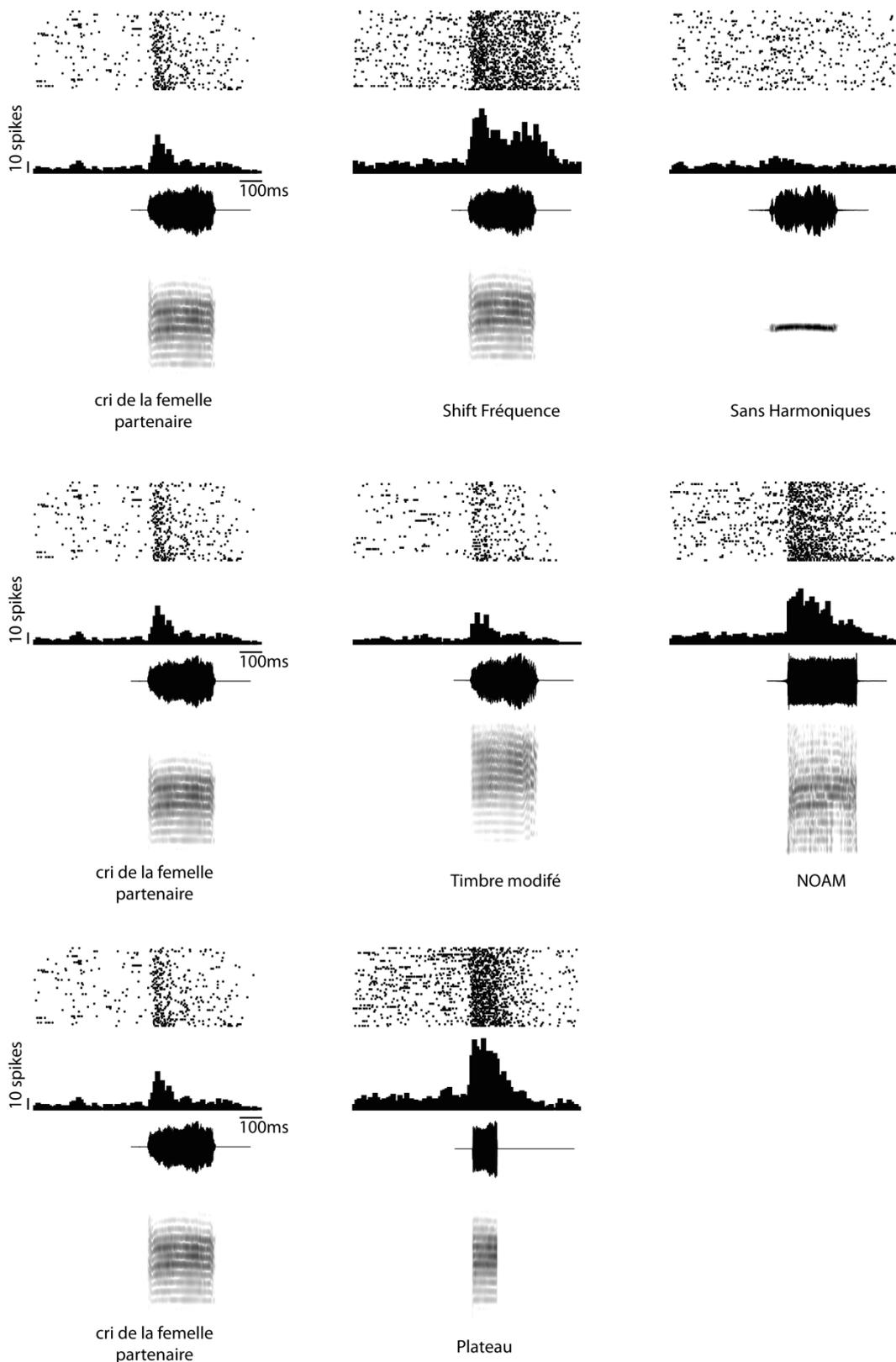


Figure 39 : Exemple de réponses d'une cellule chez un mâle vigile au cri de la femelle partenaire ainsi qu'à toutes les versions modifiées de ce dernier. La première ligne correspond aux modifications vivant le spectre fréquentiel des crs, la secondes celles visant la répartition de l'énergie et le décours temporel du cri, et enfin la troisième représente le cri de la femelle dans son ensemble et que la partie stable en fréquence (Plateau).

Un changement dans le spectre des fréquences affecte donc les réponses, mais l'effet observé dépend donc du sexe de l'oiseau qui a émis le cri.

La suppression du cortège d'harmoniques des vocalisations en ne gardant que celles sur laquelle il y a le plus d'énergie s'accompagne d'une absence de réponses des neurones du NCM que ce soit pour le cri de la femelle partenaire ou pour le propre cri du mâle (Partenaire Vs. Sans Harmoniques, $0,68 \pm 0,10$ Vs. $0,16 \pm 0,09$; $n=50$; $t_{49}=4,08$; $p=0,0002$; BOC Vs. Sans Harmoniques, $0,78 \pm 0,15$ Vs. $0,08 \pm 0,09$; $n=34$; $t_{33}=4,19$; $p=0,0002$)(fig. 41A, 41C). De plus, comme cela a été observé chez les femelles, plus de neurones montrent une inhibition de leur activité lors de la présentation du cri qui n'est constitué qu'une seule harmonique que lors de la présentation du cri non modifié (Partenaire Vs. Sans Harmoniques, $2/50$ Vs. $13/50$; $\chi^2=12,58$; $p=0,003$; BOC Vs. Sans Harmoniques, $4/34$ Vs. $11/34$; $\chi^2=6,58$; $p=0,01$)(fig. 41 B, 41D).

5.4.2 Réponses aux cris dont le timbre a été modifié et aux cris sans modulation d'amplitude

Modifier la répartition d'énergie sur les différentes harmoniques a également un effet différent selon le type de cri qui a été modifié. En effet, modifier le timbre du cri de la femelle partenaire n'a pas d'effet sur l'amplitude des réponses (Partenaire Vs. Timbre Modifié, $0,68 \pm 0,10$ Vs. $0,68 \pm 0,10$; $n=50$; $t_{49}=-0,06$; $p=0,95$)(fig. 42A). En revanche, cela a comme conséquence une baisse significative des réponses lorsque le cri modifié est le propre cri de l'oiseau (BOC Vs. Timbre Modifié, $0,82 \pm 0,10$ Vs. $0,67 \pm 0,09$; $n=54$; $t_{53}=2,77$; $p=0,008$)(fig. 42B).

Concernant les modulations d'amplitude, les supprimer (stimulus NoAM) ne modifie pas non plus les réponses des neurones par rapport à celles au cri non modifié, que ce soit pour le cri du partenaire ou le propre cri de l'oiseau (Partenaire Vs. NoAM, $0,65 \pm 0,10$ Vs. $0,64 \pm 0,10$; $n=37$; $t_{36}=0,10$; $p=0,92$; BOC Vs. NoAM, $0,70 \pm 0,16$ Vs. $0,76 \pm 0,15$; $n=22$; $t_{21}=-0,63$; $p=0,54$)(fig. 43A, 43B). Encore une fois, cette observation est similaire à ce que nous avons pu observer chez les femelles.

5.4.3 Réponses aux différentes parties des cris

Nous avons également cherché à savoir si les neurones des mâles préféraient un signal modulé en fréquence à un signal non modulé et s'ils préféraient un type de modulation de fréquence. La présentation de la partie du cri de femelle qui n'a pas de modulation de fréquence induit tout autant de réponses que le cri de la femelle dans son intégralité (ce cri débute par un segment très court constitué d'une modulation de fréquence montante)(Partenaire Vs. Plateau,

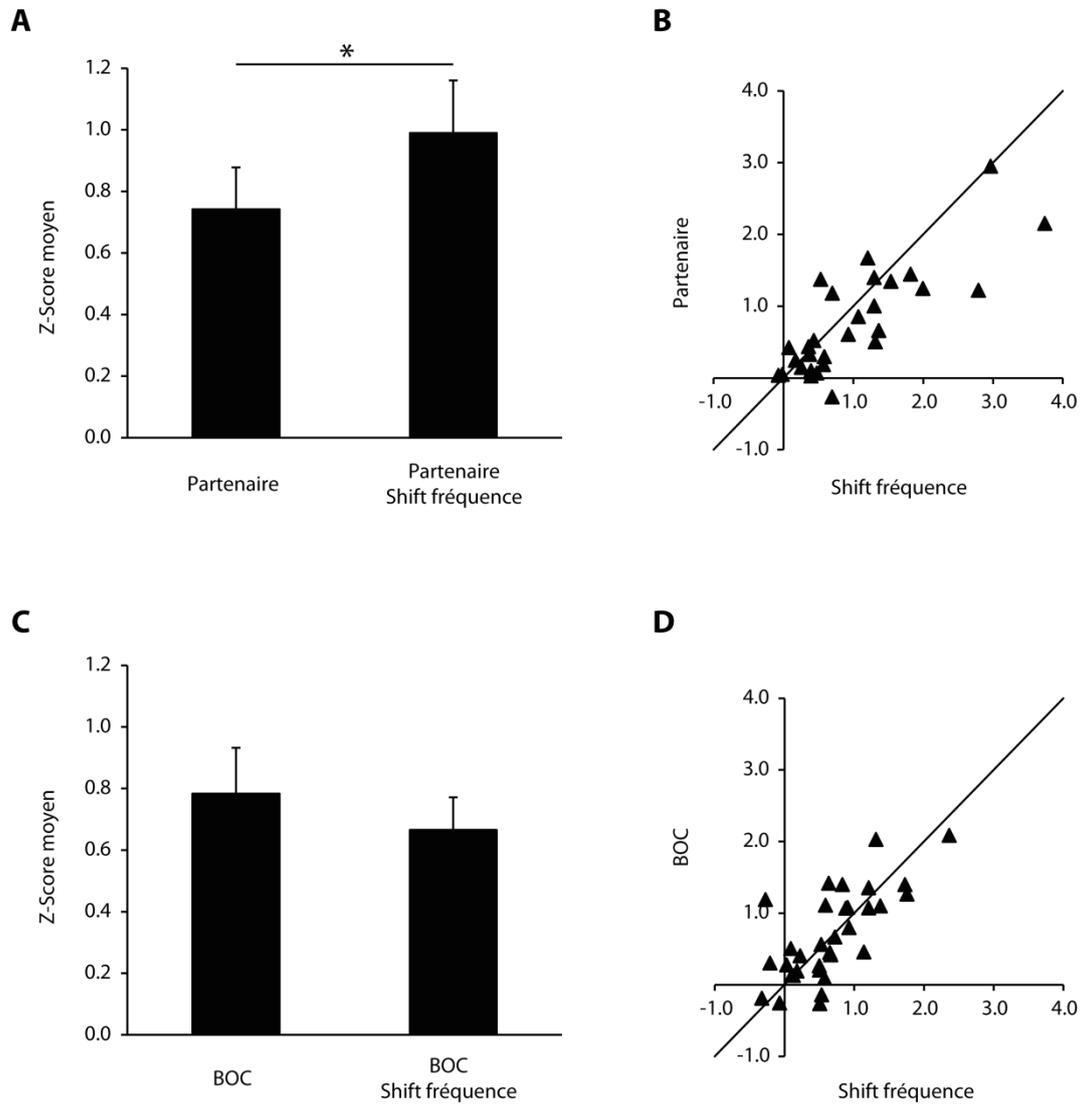


Figure 40 : Chez les mâles, le décalage du spectre en fréquence du cri de la femelle partenaire provoque une augmentation des réponses des neurones du NCM (A). En (B) sont représentées les réponses pour les mêmes cellules entre le cri de la femelle partenaire et sa version Shift fréquence. On peut qu'un plus nombre de cellules répondent fortement à cette version plutôt qu'à la version non modifiée. En revanche, pour le propre cri des mâles (B), nos résultats ne montrent aucune différence dans l'amplitude moyenne des réponses entre la version originale et décalée en fréquence, ni dans le nombre de cellules répondant plus à une version par rapport à l'autre.

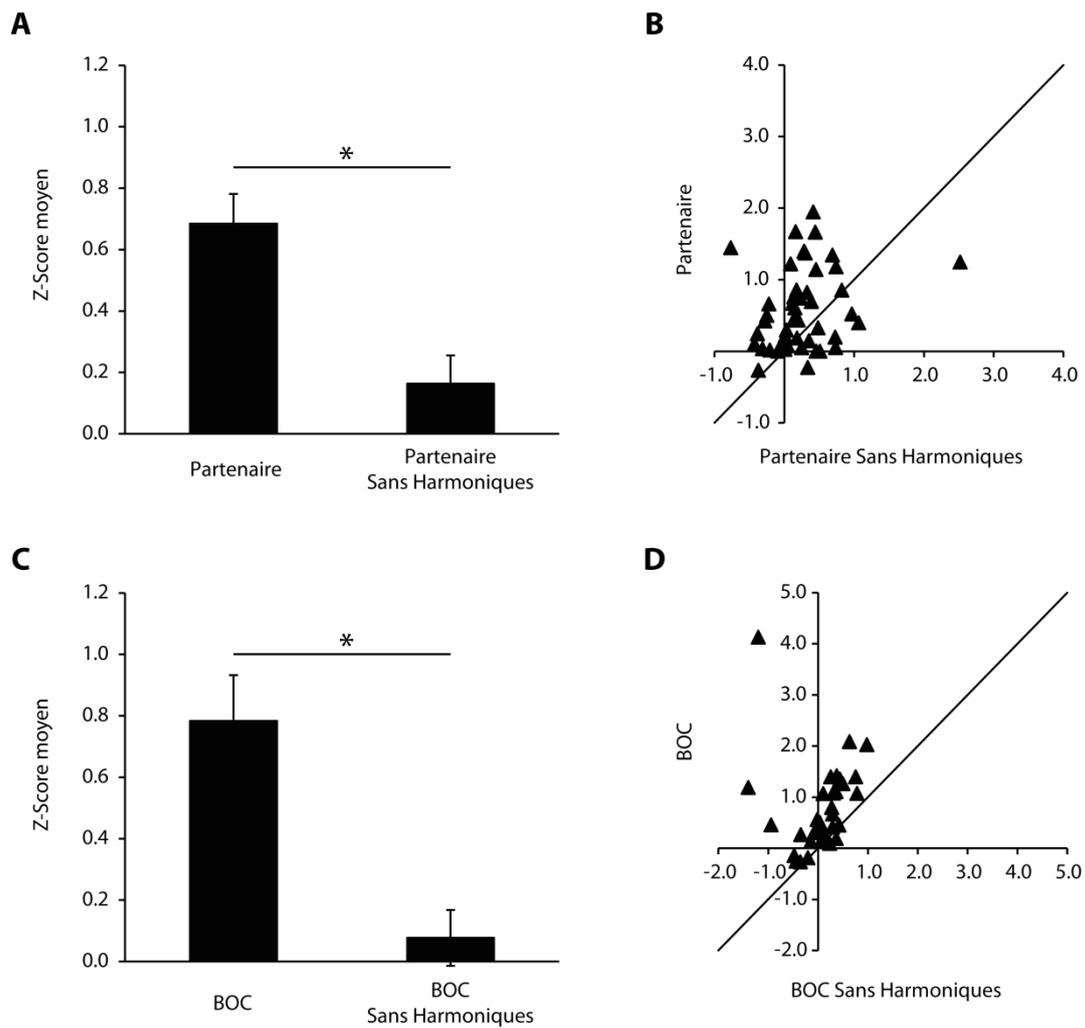


Figure 41 : Chez les mâles, supprimer le cortège d’harmoniques des cris diminue fortement les réponses neuronales au cri de la femelle partenaire (A), ainsi qu’au propre cri de l’oiseau (B). Les cellules répondent plus aux cris composés d’harmoniques que sans harmoniques (B,D).

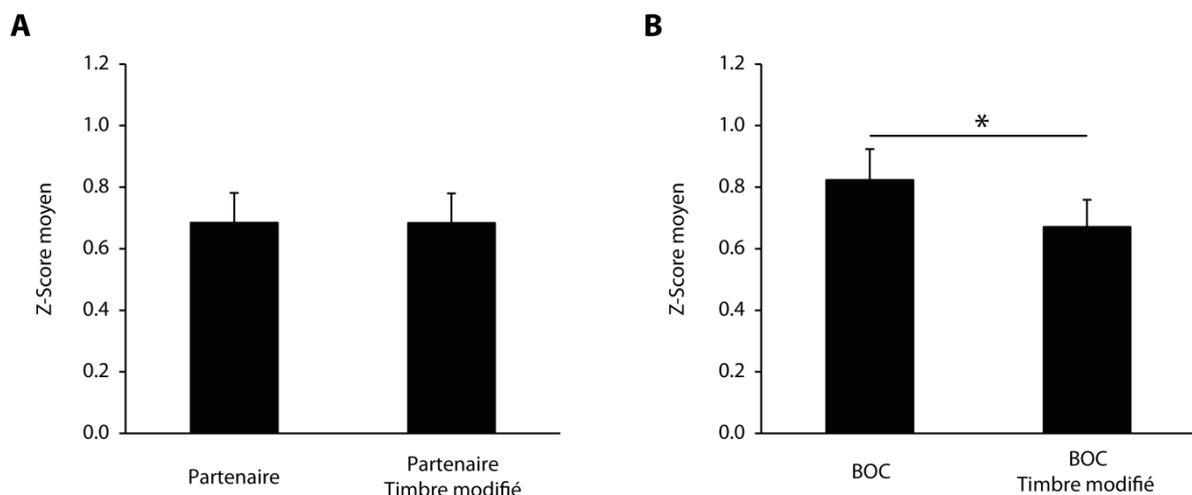


Figure 42 : La modification du timbre du propre cri des individus diminue les réponses des neurones vis à vis de ce signal, alors que pour le cri de la femelle partenaire cela n’a aucun effet.

0,71 ± 0,10 Vs. 0,73 ± 0,10 ; n=47 ; $t_{46}=0,12$; p=0,73)(fig. 44). De plus, le premier segment du propre cri des mâles testés (FM Montante) induit des réponses dont l'amplitude ne diffère pas de celles induites par le second et dernier segment (FM Descendante)(FM Montante Vs. FM Descendante, 0,75 ± 0,18 Vs. 0,52 ± 0,11 ; n=30 ; $t_{29}=1,47$; p=0,15)(fig. 44B). Comme chez les femelles, la population de neurones enregistrés chez les mâles n'apparaît pas particulièrement sensible aux modulations de fréquence des cris.

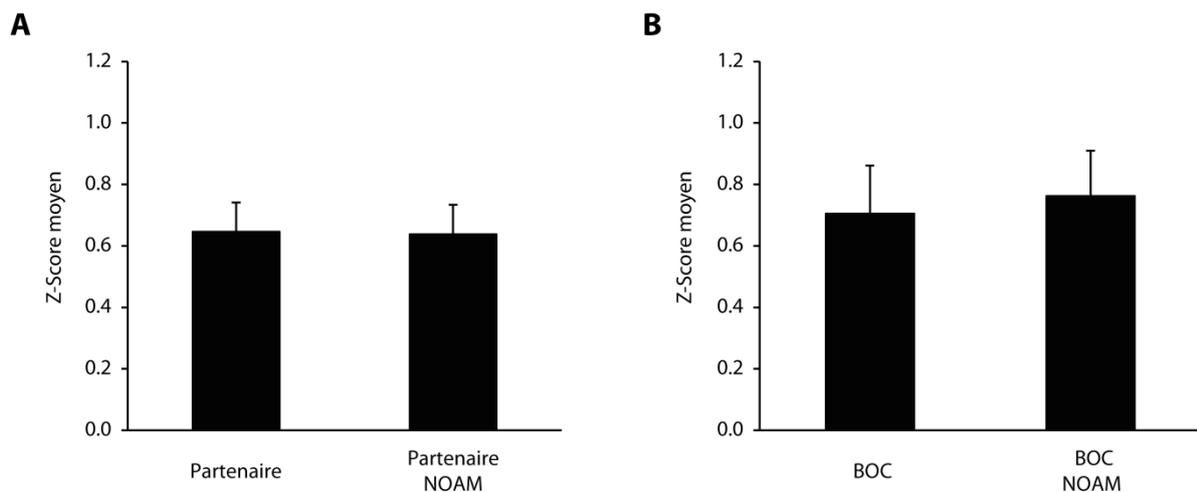


Figure 43 : Supprimer les modulations d'amplitudes du cri de femelle ou de mâle n'a aucun effet sur les réponses des neurones.

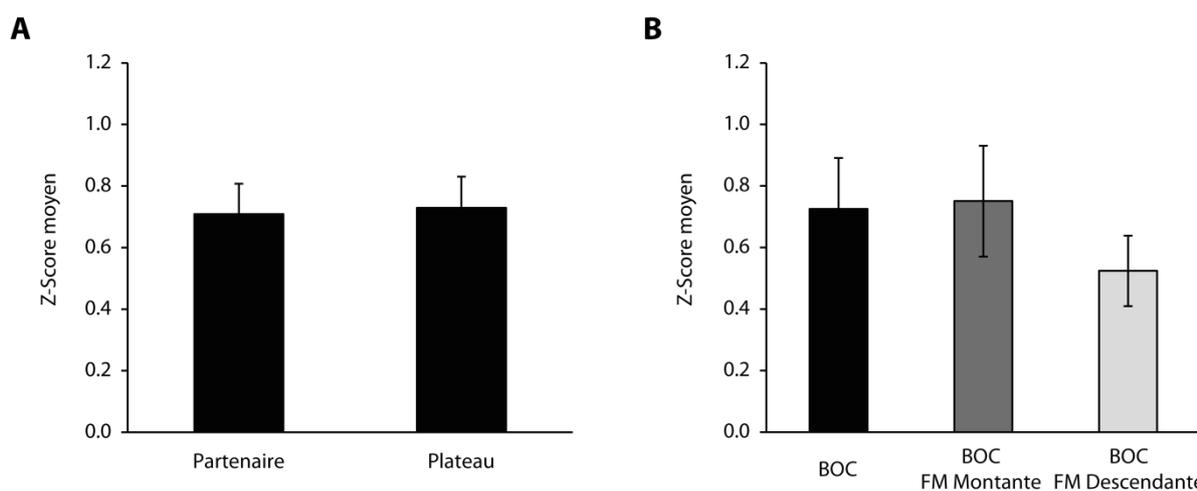


Figure 44 : Les neurones du NCM des mâles répondent aussi fortement à la présentation d'une partie du cri de la femelle partenaire qu'à la diffusion de ce cri dans son ensemble. De plus, Les neurones répondent aussi fortement à la 1ère partie du propre cri des mâles (FM Montante) qu'à la 2nde partie (FM Descendante).

Tableau récapitulatif des modifications opérées sur les cris de distance et leurs effets sur les réponses des neurones

	Shift fréquence		Sans harmoniques		Timbre modifié		NOAM		Bruit Blanc	
	mâle	femelle	mâle	femelle	mâle	femelle	mâle	femelle	mâle	femelle
Chez les femelles	↘	-	↘	↘	↘	↘	-	-	↘	↘
Chez les mâles	-	↗	↘	↘	↘	-	-	-	pas testé	

Table 1

5.5 Discussion

Dans cette partie de ma thèse, nous nous sommes intéressés aux propriétés auditives des neurones du NCM, à travers la question de l'encodage des cris de distance. Notre approche a été de modifier une à une certaines caractéristiques acoustiques du cri du partenaire sexuel ou du propre cri de l'oiseau puis de confronter les réponses des neurones à ces cris modifiés à celles obtenues au cri initial afin d'évaluer l'impact de la modification sur la réponse (Table 1). L'intérêt des modifications apportées était double car nous nous sommes en grande partie appuyés sur les travaux de Vignal & Mathevon (2011) pour modifier des caractéristiques acoustiques afin, d'une part, de déterminer dans quelle mesure les caractéristiques acoustiques qui sont requises pour évoquer des réponses de la part de neurones du NCM sont celles qui sont impliquées dans la reconnaissance d'un point de vue comportemental des cris de distance.

Dans l'ensemble, nos résultats indiquent qu'aussi bien chez les femelles que chez les mâles, certaines modifications acoustiques des cris ont un impact sur les réponses des neurones du NCM. C'est notamment le cas de celles affectant la structure en fréquence du cri du partenaire sexuel. Cependant, les résultats diffèrent entre les femelles et les mâles. Alors que chez les femelles, les modifications acoustiques qui ont un effet sur les réponses des neurones s'observent quel que soit le cri, le cri du mâle partenaire comme le propre cri de la femelle (sauf pour le décalage en fréquence où la baisse n'est pas significative), les résultats obtenus chez les mâles diffèrent selon qu'il s'agit de l'un ou de l'autre des cris.

Chez les femelles, les résultats suggèrent que la gamme de fréquence à laquelle les neurones du NCM (dans notre étude c'est plutôt le NCM dorsal et rostral) sont sensibles doit inclure la fréquence fondamentale des cris de mâles, bien que cela ne soit pas significatif pour le propre cri de la femelle, puisque décaler la bande de fréquence de façon à ce qu'il n'y ait pas cette première harmonique, entre 0 et 1000Hz, induit des réponses moindres que celles obtenues avec le cri original. Cette gamme de fréquence pourrait être bien plus large puisque un changement du timbre, de façon à ce que ce ne soit pas les harmoniques qui se trouvent entre 3

kHz et 6 kHz mais celles entre 3,5 et 6,5 kHz qui portent le plus d'énergie a comme conséquence que le cri induit des réponses de plus faible amplitude que le cri original. En faveur de cette hypothèse, on peut également ajouter qu'un stimulus qui n'est composé que de l'harmonique qui se trouve entre 3 et 4 kHz induit une inhibition de la part d'environ 45-50% des neurones. Il peut être également ajouté qu'une étude réalisée par Terleph et al, (2007) indiquait que les neurones du NCM répondaient à des sons dans une large bande de fréquence, d'environ 3,5 kHz. Enfin, le fait que les cris soient composés d'harmoniques pourrait également contribuer à évoquer des réponses. Un bruit blanc qui couvre la bande de fréquence des cris induit en effet des réponses moindres que le cri et cela n'est pas dû à l'absence de modulation d'amplitude du bruit blanc utilisé dans notre étude car la version du cri non modulé en amplitude (NoAM) évoque des réponses qui ne diffèrent pas de celles évoquées par le cri original. L'ensemble de ces résultats suggère donc que les neurones du NCM sont sensibles aux paramètres acoustiques qui font partie du domaine spectral au moins dans la gamme de fréquence comprise entre 0 et 5kHz.

En revanche, la population de neurones que nous avons enregistrée chez les femelles apparaît peu sensible aux variations temporelles de fréquence. Les différentes parties du cri de mâles alors qu'elles diffèrent par le type de modulation de fréquence évoquent des réponses d'amplitude similaire lorsqu'elles sont présentées séparément. Un segment de cri de mâle modulé en fréquence n'évoque pas plus de réponses que la partie non modulée (Plateau) du cri de femelle. Le fait que dans cette étude comme dans l'étude précédente (chapitre 3), les neurones répondent avec la même amplitude au cri de mâle, très modulé en fréquence, et à un cri de femelle au contraire très peu modulé, suggère également que les réponses ne reposent pas sur le type de variation que montrent les paramètres fréquentiels au cours du temps. Cependant, dans notre étude, les neurones n'ont été testés qu'avec peu de signaux qui différaient par le type de modulation de fréquence. Surtout, comme les cris de mâles sont constitués de deux segments qui ne sont pas symétriques, nous ne donc pouvons pas déterminer si les neurones répondent différemment à un type de modulation de fréquence (montante ou descendante) de pente équivalente. Un échantillon plus large de signaux serait nécessaire pour déterminer dans quelle mesure les neurones du NCM sont sensibles aux modulations de fréquence.

De plus, les résultats présentés ici ne sont basés que sur le nombre de potentiels d'action émis avant et pendant la durée du cri. Or, des études ont montré que des réponses à des stimuli auditifs pouvaient se différencier non pas en termes de nombre de potentiels d'action mais en termes de pattern d'activité temporel. Ainsi, au niveau du cortex auditif primaire du furet ou du cobaye, alors que différentes vocalisations évoquent une augmentation similaire du nombre de potentiels d'action sur la durée globale de la vocalisation, une analyse des variations temporelles de l'activité neuronale montrent des différences entre les vocalisations (Schnupp et al., 2006;

Huetz et al., 2009). Afin de déterminer si les neurones du NCM sont sensibles aux modulations temporelles, il sera nécessaire dans le futur de comparer le pattern d'activité des trains de potentiels d'action évoqués par des stimuli présentant des modulations temporelles différentes. Enfin, si les neurones apparaissent dans cette étude peu sensibles aux variations temporelles des paramètres acoustiques, cela est peut-être dû au fait que le cri est un signal acoustique de courte durée. Le fait que les neurones du NCM répondent différemment aux stimuli auditifs en fonction de leur rythme de présentation (Beckers and Gahr, 2010) suggère au contraire que les neurones intègrent des aspects temporels relatifs aux vocalisations. Les cris ont des durées comparables aux syllabes qui composent les chants. Les neurones ne sont peut-être pas sensibles aux variations temporelles des paramètres acoustiques des cris ou syllabes mais ils sont peut-être sensibles à la façon dont les cris ou syllabes s'enchaînent dans le chant et d'un chant à l'autre (Tremere and Pinaud, 2011). À nouveau, des études complémentaires seront nécessaires pour déterminer dans quelle mesure les variations temporelles (et lesquelles) contribuent aux réponses des neurones du NCM.

Chez les mâles, les conséquences des modifications acoustiques opérées sur les cris semblent dépendre du sexe de l'oiseau qui a émis le cri, et donc de la structure du cri, puisque décaler le spectre des fréquences de façon à supprimer la première harmonique induit une augmentation des réponses par rapport à celles obtenues au cri initial si le cri est un cri de femelle, mais n'affecte pas les réponses si le cri modifié est un cri de mâle. De la même façon, modifier le timbre n'a un effet sur les réponses (baisse de l'amplitude des réponses), que pour un des deux cris, mais cette fois-ci cela concerne le cri de mâle. Modifier le timbre d'un cri de femelle n'affecte pas les réponses. Cela suggère que chez les mâles, modifier la gamme de fréquence et la répartition de l'énergie sur les différentes fréquences qui composent les harmoniques d'un cri dépend du type cri, mâle ou femelle. Des expériences complémentaires seront à réaliser pour tenter d'expliquer ces résultats.

Quoi qu'il en soit, ces résultats indiquent que les propriétés auditives des neurones du NCM diffèrent dans une certaine mesure entre les mâles et les femelles. Il faut toutefois mentionner le fait que, chez les mâles comme chez les femelles, ne garder que l'harmonique qui se trouve entre 3 et 4 kHz a comme conséquence une baisse de l'amplitude des réponses des neurones et que, chez les deux sexes, les neurones ne répondent pas plus à une partie du cri du mâle par rapport à une autre et enfin que la partie non modulée en fréquence du cri de femelles induit des réponses similaires en amplitude que celles induites par le cri complet.

Outre les propriétés auditives des neurones du NCM, une des questions que soulève cette étude est dans quelle mesure l'activité des neurones du NCM est un corrélat neuronal de la reconnaissance auditive. En se basant principalement sur l'étude de Vignal & Mathevon, (2011),

nous avons en effet cherché à savoir si les paramètres acoustiques impliqués dans la reconnaissance des cris étaient également ceux sur lesquels reposent les réponses des neurones du NCM. Les résultats obtenus chez les femelles permettent de discuter de cette question et suggèrent que le NCM pourrait contribuer au processus de reconnaissance des cris de distance, la plupart des résultats électrophysiologiques obtenus ici étant en accord avec les résultats comportementaux décrits dans l'étude de Vignal & Mathevon, (2011) ainsi que dans d'autres études.

Tout d'abord, comme les réponses neuronales, les réponses comportementales de reconnaissance du cri apparaissent dépendre de certaines caractéristiques spectrales des cris. En effet, ces réponses s'observent si le signal acoustique couvre une large bande de fréquence (0 à 5 kHz) et est composé d'harmoniques, un son composé d'une seule harmonique ou un bruit blanc qui couvre la même bande de fréquence que le cri ne les font pas répondre (Vignal and Mathevon, 2011). De plus, modifier la répartition relative de l'énergie sur les différentes harmoniques, induit moins de réponse que ce soit d'un point de vue neuronal ou comportemental (Vignal and Mathevon, 2011). D'autres études avaient également montré que les diamants mandarins sont capables de détecter des modifications du timbre des signaux de communication (Cynx et al., 1990; Uno et al., 1997). Dans ces études, la deuxième harmonique était soit supprimée soit atténuée et les diamants mandarins étaient capables de discriminer entre le cri modifié et le cri initial.

De plus, d'un point de vue comportemental comme d'un point de vue neuronal, les modulations de fréquence descendante n'évoquent pas plus de réponse qu'un signal sans modulation de fréquence. Les femelles répondent comportementalement au cri de mâle non modifié qu'au même cri de mâle modifié de façon à ce qu'il ne soit plus modulé en fréquence (Vignal and Mathevon, 2011). Les auteurs expliquent cela par le fait qu'après une telle modification, les cris ont une structure proche de celles des cris de femelles, cris qui font répondre comportementalement les femelles. D'ailleurs dans nos expériences, bien que présentées séparément, les modulations de fréquence montantes et descendantes des cris mâles ainsi que le plateau des cris femelles restent, du point de vu acoustique, propre à l'espèce étudiée, c'est-à-dire que la gamme de fréquence et les modulations temporelles sont dans les limites de l'espèce. Pris avec le fait que de nombreuses études semblent indiquer que le NCM est particulièrement impliqué dans le traitement des signaux de l'espèce (Chew et al., 1995; Stripling et al., 1997; pour revue, Mello et al., 2004), cela peut expliquer pourquoi nos enregistrements montrent que les neurones du NCM répondent aussi fortement à un de ces signaux par rapport à un autre.

Enfin, sur un point, les résultats électrophysiologiques ne semblent pas être en accord avec les résultats comportementaux. Alors que d'un point de vue neuronal, l'absence de la première fondamentale a comme conséquence une diminution de l'amplitude des réponses, alors que cette absence a peu d'effet sur les réponses comportementales.

Par conséquent, excepté cette différence, les neurones du NCM chez les femelles apparaissent sensibles à des caractéristiques acoustiques qui jouent un rôle dans la reconnaissance du cri de mâle. Notre étude suggère donc que le NCM pourrait être impliqué dans le traitement auditif qui permet la reconnaissance du cri des mâles de l'espèce.

Chapitre 6.

Discussion générale

L'ensemble des expériences de mon projet de thèse avait pour objectif d'apporter de nouveaux éléments permettant de comprendre comment sont représentées et reconnues les vocalisations au sein d'une aire auditive secondaire. Dans ce cadre, le travail présenté ici tire de nombreux avantages du modèle qu'est l'oiseau chanteur, et plus particulièrement du diamant mandarin. Tout d'abord parce que les diamants mandarins vivent en colonie de plusieurs dizaines d'individus et forment des couples monogames. De plus, ils émettent des cris de distance qui sont, d'un point de vue acoustique, propres à chaque individu. Ils sont également capables de reconnaître leur partenaire sexuel sur la base de ces vocalisations (Zann, 1996; Vignal et al., 2004, 2008). Suite à ces observations comportementales, se pose la question du substrat neuronal impliqué dans la discrimination des vocalisations de l'espèce, comme par exemple le cri du partenaire sexuel. Une région auditive (analogue du cortex auditif secondaire chez les mammifères), appelée nidopallium caudomedian, ou NCM, présente des caractéristiques particulières lui suggérant un rôle dans le traitement des signaux vocaux de communication de l'espèce.

Chez les femelles vigiles et anesthésiées vivant en couple, nos résultats suggèrent que la familiarisation avec des congénères au travers d'interactions sociales modifie la représentation des vocalisations de ces individus au sein du NCM, qu'ils soient mâles ou femelles. Nos expériences suggèrent, en effet, que cette familiarisation modifie les propriétés auditives des neurones du NCM, notamment en augmentant l'amplitude globale des réponses aux cris connus par rapport aux cris inconnus, le degré de sélectivité des neurones ainsi que la quantité d'information portée par le pattern temporel de décharges neuronales (en ce qui concerne les cris de mâles). Ainsi, chez les femelles diamants mandarins, pour qui la reconnaissance des individus familiers est fondamentale pour interagir, le NCM serait impliqué dans la discrimination des cris familiers par rapport aux autres cris de la scène auditive. La représentation des vocalisations au niveau du NCM permettrait donc de catégoriser les vocalisations selon qu'elles ont été mémorisées ou pas.

Si l'analyse de l'activité neuronale en termes de nombre de potentiels d'action a permis de révéler une discrimination entre les cris connus (mâle partenaire ou mâle familial) des cris inconnus (mâle inconnu), en revanche elle n'a pas permis de mettre en évidence une différence dans les réponses entre le cri du partenaire sexuel et celui d'un mâle familial. Pourtant, d'un point de vue comportemental les femelles peuvent distinguer ces deux types de cris (Vignal et al., 2008). Il faut alors prendre en compte que bien plus de neurones chez les femelles en couple que chez les femelles contrôles répondaient sélectivement au cri du mâle partenaire qu'au cri du mâle familial (et réciproquement). Ainsi, chez les femelles vivant en couple une discrimination entre le cri du mâle partenaire et familial peut exister au sein du NCM, d'autant plus que le

codage des vocalisations peut être réalisé de différentes manières. Durant ces dernières années, la littérature s'accorde à dire que les signaux de communication sont représentés à la fois par le taux et le pattern de décharge des neurones dans les aires auditives (Lu et al., 2001; Huetz et al., 2006, 2011). Une analyse de l'organisation temporelle des décharges neuronales évoquées par les différents cris de mâles a alors indiqué que, chez les femelles en couple, parmi les neurones qui répondaient avec la même force aux différents cris de mâles, certains affichaient des motifs temporels d'activité différents selon le type de cri de mâle considéré (figure 10 de l'article publié dans *European Journal of Neuroscience*, page 52). De plus, comme la discrimination entre les patterns temporels d'activité évoquée par les différents cris de mâles, (évaluée à travers la quantité d'information transmise par les trains de potentiels d'action) est apparue comme plus importante chez les femelles en couple que chez les femelles contrôles. L'ensemble de nos données suggèrent que la mémorisation des cris du mâle partenaire et du mâle familial a eu un impact sur la capacité de distinction opérée par les neurones du NCM entre les trois types de cris, le cri du mâle partenaire, du mâle familial et du mâle inconnu.

Le fait que les neurones du NCM répondent à la présentation des cris de distance et que ces réponses révèlent un processus de discrimination entre les différents cris présentés soulève la question des paramètres acoustiques des cris auxquels sont sensibles les neurones du NCM. Les cris de distance de mâles et de femelles diamants mandarins ont une structure acoustique qui les caractérise et les différencie. Dans notre étude, après avoir diffusé le cri du partenaire sexuel et le propre cri de l'oiseau, dont certaines caractéristiques acoustiques ont été modifiées une à une, nos analyses de l'activité neuronale ont révélé qu'une modification de la gamme de fréquence couverte par les cris de longue distance ou du timbre des vocalisations diminuent l'amplitude des réponses au sein du NCM. Comme ce type de modifications acoustiques abolit également les réponses comportementales que les diamants mandarins présentent lors de la diffusion d'un cri de distance (Vignal et al., 2008; Vignal and Mathevon, 2011), notre étude suggère qu'un codage des paramètres fréquentiels au sein du NCM pourrait permettre de reconnaître le cri en tant que signal acoustique signifiant. Les paramètres fréquentiels permettent de transmettre de l'information quant à l'identité de l'individu, variant d'un individu à l'autre, que le cri soit un cri de mâle ou de femelle (Vignal et al., 2008). Un tel codage des caractéristiques fréquentielles par les neurones du NCM pourrait alors contribuer à la distinction entre le cri d'un individu et celui d'un autre individu. Pour aller plus loin encore, comme la mémorisation du cri d'un individu familial s'accompagne d'un changement dans sa représentation au sein du NCM, l'idée qui pourrait être proposée est celle selon laquelle la mémorisation pourrait s'accompagner d'un changement dans la représentation au sein du NCM des paramètres acoustiques contenus dans les cris, notamment en ce qui concerne la gamme de

fréquence et la répartition de l'énergie sur les harmoniques. Ces changements contribueraient à rendre les neurones plus sélectifs envers les paramètres acoustiques des signaux ayant une signification pour l'individu. Mais, comme dans notre étude, nous n'avons pas modifié chacun des paramètres des cris (du propre cri de l'oiseau ou de son partenaire) de façon à ce que sa valeur soit celle d'un autre individu, notre étude n'apporte pas d'arguments directs en faveur de cette hypothèse et nos hypothèses restent spéculatives. Une façon dans l'avenir de les tester pourra être de recueillir les réponses des neurones du NCM lors de la présentation d'un cri inconnu auquel seules les caractéristiques fréquentielles, comme les valeurs des fréquences des harmoniques auront été modifiées de façon à ce qu'elles correspondent à celles du cri du partenaire sexuel. De cette façon, selon nos hypothèses, les neurones devraient répondre plus à ce cri qu'au cri original. Chez les femelles, le codage des signaux de communication en fonction de leur structure acoustique et de leur signification semble mettre en jeu le NCM. Cependant, d'autres régions semblent également impliquées. Il a été montré, en effet, que la présentation de cris de distance induit une augmentation de l'expression du gène *Zenk* non seulement dans le NCM, mais aussi dans le CMM et dans l'hippocampe (Gobes et al., 2009). De plus, chez des femelles diamants mandarins vivant en couple, l'expression du gène *Zenk* dans le noyau taeniae, qui est comparé à l'amygdale chez les mammifères, est significativement plus forte consécutivement à des interactions avec le mâle partenaire plutôt qu'avec un individu inconnu (Svec et al., 2009). Par conséquent, le NCM pourrait faire partie d'un large réseau de régions cérébrales qui seraient impliquées dans la représentation des cris et de leur signification chez le diamant mandarin.

Chez les mâles, lorsqu'ils sont dans les mêmes conditions que les femelles, c'est à dire seuls, nos expériences ne montrent pas de différence dans la force des réponses ou dans la sélectivité des neurones entre les cris de distance d'individus familiers (dont celui de la femelle partenaire) et celui d'individus inconnus. Qui plus est, nous observons les mêmes résultats lorsque ces mêmes vocalisations sont présentées à des mâles qui ne les avaient jamais entendues auparavant. Le NCM ne semble donc pas impliqué dans la discrimination des cris selon qu'ils soient familiers ou inconnus. Ce résultat n'est pas surprenant. En effet, jusqu'à présent aucune étude n'a montré quelle que soit l'approche méthodologique utilisée, une différence dans les réponses des neurones du NCM aux cris chez les mâles en fonction du degré de familiarité. De plus, à ma connaissance, aucune étude ne montre que les mâles diamants mandarins seuls dans une pièce sont capables de discriminer entre les différents cris de femelles selon ce degré de familiarité. D'après deux études comportementales, ce n'est que lorsqu'ils sont placés dans un contexte social d'écoute particulier que les mâles sont capables de discriminer entre deux cris de femelles, un cri connu (celui du mâle partenaire ou d'un mâle familier) et un

cri d'un individu inconnu (Vignal et al., 2004; Perez et al., 2012). Cependant, nos travaux ne montrent pas que le type de contexte social dans lequel se trouve le mâle influe sur le traitement auditif réalisé au sein du NCM. Les neurones ne répondent pas différemment au cri de la femelle partenaire, de la femelle familière et de la femelle inconnue qu'il soit seul, en présence de la femelle partenaire, de deux mâles ou d'un couple d'individus. Toutefois, dans notre étude, peu de neurones ont été enregistrés, ce qui suggère que cette étude devrait être complétée.

La présentation de versions modifiées du cri de la femelle partenaire ou du propre cri des mâles montre que les neurones des mâles sont moins sensibles aux changements dans les paramètres acoustiques des cris que les neurones des femelles. De plus, ils répondent d'une manière bien plus variable que ce qui a été observé chez les femelles. Par exemple la modification du timbre du cri de la femelle partenaire provoque une baisse des réponses de la part des neurones, alors que cette même modification sur le propre cri de l'oiseau ne provoque pas de changement dans les réponses des neurones. De la même manière, décaler le spectre de fréquences des cris provoque une augmentation ou une diminution des réponses neuronales selon que l'on considère le cri de la femelle partenaire ou bien le propre cri des mâles. Nos résultats semblent donc indiquer que les neurones du NCM réalisent un codage des paramètres acoustiques, qui diffère de celui réalisé chez les femelles mais qui apparaît difficile à interpréter en termes de sensibilité à certaines caractéristiques acoustiques.

Face à ces résultats obtenus chez les mâles, bien qu'ils ne mettent pas en évidence de différence ni dans les taux de décharge ni dans la sélectivité des neurones entre les cris familiers et inconnus au sein du NCM, nous n'excluons pas l'hypothèse selon laquelle une discrimination serait réalisée entre les cris de différents individus au sein du NCM. Tout d'abord, comme cela a déjà été cité précédemment, des études ont montré que lorsque les réponses de neurones auditifs sont comparables, en termes de nombre de potentiels d'action, entre deux signaux, le pattern temporel des décharges neuronales peut permettre la discrimination de ces signaux (Schnupp et al., 2006; Huetz et al., 2009). Comme dans nos études réalisées chez les mâles, nous n'avons pas analysé les trains de potentiel d'action émis lors de la diffusion des différents cris, une telle analyse pourrait révéler un traitement différentiel des cris selon leur degré de familiarité. De plus, un codage populationnel des vocalisations est également à prendre en compte. Jusqu'à présent, peu d'études se sont intéressées à ce type de codage dans les aires auditives (Huetz et al., 2011). Chez les oiseaux chanteurs, une étude s'est penchée sur les réponses des neurones du noyau du mésencéphale (MLd), qui projette sur le thalamus auditif et qui est l'homologue du colliculus inférieur chez les mammifères, lors de la présentation de différents chants. Dans cette structure, le codage des vocalisations par un ensemble de neurones augmente fortement la discrimination entre les vocalisations (Schneider and Woolley, 2010).

Des analyses complémentaires seraient donc nécessaires pour déterminer comment sont représentés les cris au sein du NCM des mâles diamants mandarins.

Ensuite, il faut envisager la possibilité que, chez les mâles, la discrimination entre les différents cris soit réalisée dans une autre partie du NCM que celle où nous avons effectué nos enregistrements ou dans une autre région auditive. Cependant, l'étude de Gobes et al, 2009 indique que chez les mâles la présentation de cris de distance, que ce soit de cris de mâles ou de cris de femelles s'accompagne d'une absence d'activation du gène *Zenk* non seulement dans le NCM médian, mais aussi dans le NCM latéral, le CMM et dans l'hippocampe. Ces résultats sont surprenants étant donné l'amplitude des réponses électrophysiologiques observées dans nos études et dans une étude antérieure (Chew et al., 1996a).

Maintenant, chez les mâles, le NCM pourrait être impliqué non pas dans la discrimination et l'identification des cris mais dans celle des chants. La lésion du NCM ainsi que le blocage pharmacologique de l'action de l'œstradiol au sein du NCM n'altère pas la capacité des mâles à discriminer les cris de mâles et de femelles (Gobes and Bolhuis, 2007; Tremere and Pinaud, 2011). En revanche, ces deux traitements abolissent la préférence comportementale pour le chant du tuteur par rapport à celui d'un individu inconnu (Gobes and Bolhuis, 2007; Ramage-Healey et al., 2010; Tremere and Pinaud, 2011). D'autres données de la littérature montrent l'importance du rôle du NCM dans la discrimination des chants appris et inconnus. Une étude très récente chez l'étourneau montre que les réponses dans le NCM ventral sont plus fortes pour des chants inconnus que pour des chants appris (Thompson and Gentner, 2010). Toujours chez l'étourneau, les réponses des neurones du NCM diffèrent selon l'information portée par différentes catégories d'éléments vocaux contenues dans les chants: elles sont les plus fortes lors de la présentation des vocalisations hautement individualisées, un peu moins fortes lors de la présentation des vocalisations individuelles mais pouvant être partagées, et enfin encore moins fortes pour celles communes à tous les mâles étourneaux et servant à reconnaître l'espèce et la population (George et al., 2008). Chez les mâles, le NCM pourrait donc jouer un rôle important dans la reconnaissance des chants ayant acquis une signification pour l'individu mais ne serait pas impliqué dans ce processus (ou du moins son implication serait moindre) en ce qui concerne les cris de distance. L'ensemble des données de nos études suggèrent donc un rôle différent du NCM dans le traitement des vocalisations entre les mâles et les femelles diamants mandarins. Plusieurs éléments sont à prendre en compte pour expliquer une telle différence entre les mâles et les femelles et de nombreuses données de la littérature viennent étayer cette hypothèse.

Tout d'abord, une différence notable chez les diamants mandarins est que seuls les mâles chantent alors que les femelles ne font qu'émettre des cris. Ils apprennent leur chant par imitation d'un tuteur et de nombreuses études suggèrent qu'il existe au sein du NCM une

représentation du chant du tuteur ainsi que du propre chant de l'individu (Gobes and Bolhuis, 2007; Velho et al., 2012; pour revue, Bolhuis and Gahr, 2006).

En outre, dans le circuit ascendant du système auditif, le NCM est situé en amont d'un noyau, le HVC qui présente un fort dimorphisme sexuel en ce qui concerne son volume. Le HVC occupe chez les mâles une place de choix dans le traitement de l'information auditive relative au chant puisque les neurones présentent une forte sélectivité pour le propre chant de l'oiseau et est impliqué dans la commande motrice du chant. Il est aussi impliqué dans la production des cris : une lésion de l'HVC modifie la structure acoustique des cris de mâles mais n'a pas de conséquence sur celle des cris de femelles (Simpson and Vicario, 1990). Par conséquent, de par la différence dans la production des vocalisations entre mâles et femelles, il est possible que l'intégration auditive des signaux vocaux diffère aussi selon le sexe des individus.

Des études ont également révélé des différences dans la composition neuronale du NCM caudal entre les mâles et les femelles (où nos enregistrements électrophysiologiques ont été réalisés). Une certaine sous-population de neurones inhibiteurs se trouve être deux fois plus importante chez les mâles que chez les femelles. Cette sous-population de neurones se montre particulièrement sensible aux fluctuations d'œstradiol local (Pinaud et al., 2006; Tremere et al., 2009; Remage-Healey et al., 2010). Or, la diffusion de chants induit une augmentation de la production d'œstradiol par des neurones du NCM exprimant l'aromatase qui transforme la testostérone en œstradiol (Remage-Healey et al., 2010, 2012). De plus, il a notamment été mis en évidence que l'œstradiol augmente la discrimination neuronale entre les chants en modifiant le codage temporel des chants (Tremere and Pinaud, 2011). Ainsi donc, la différence dans la composition neuronale entre les mâles et les femelles pourrait avoir des répercussions sur le traitement auditif réalisé au sein du NCM. Cependant, ces conséquences fonctionnelles restent encore à être explorées.

Une autre différence entre les mâles et les femelles a été mise en évidence au niveau du NCM. La présentation de stimuli visuels (enregistrement vidéo d'un oiseau dans une cage) a des effets différents sur la production d'œstradiol dans le NCM (mesurée localement par microdialyse) selon le sexe de l'oiseau: elle induit une augmentation de la production de cette hormone chez les mâles alors qu'aucun changement n'a été mis en évidence chez les femelles et cela indépendamment du nombre de vocalisations émis par les mâles lors de ces présentations visuelles (Remage-Healey et al., 2008, 2012). Pour les auteurs, cette augmentation d'œstradiol induit par les stimulations visuelles, outre le fait qu'elle suggère un effet d'autres modalités sensorielles que l'audition sur le traitement réalisé dans le NCM des mâles, pourrait être impliquée dans les effets du contexte social sur le traitement des vocalisations (Remage-Healey et al., 2012).

Enfin, si les réponses des neurones du NCM diffèrent entre les mâles et les femelles suggérant un traitement différent des cris entre les deux sexes, il doit être également mentionné que des analyses comportementales réalisées lors de la présentation de stimuli auditifs ont également mis en évidence des différences entre les deux sexes (Vicario et al., 2001). Les mâles comme les femelles répondent plus à des cris de femelles que de mâles par l'émission de cris, mais le nombre de cris émis est plus important chez les mâles que chez les femelles (Vicario et al., 2001; Gobes et al., 2009). Les mâles sont sensibles à plusieurs paramètres acoustiques des cris (fréquence fondamentale, durée, modulation de fréquence initiale du cri) alors que les femelles répondent en fonction de la longueur du cri (Vicario et al., 2001). L'ensemble de ces données suggèrent donc que les circuits nerveux impliqués dans le traitement des vocalisations ainsi que les traitements effectués au sein de ces circuits diffèrent entre les mâles et femelles.

Quoi qu'il en soit, à côté de ces différences entre les mâles et les femelles, nos études montrent aussi que d'une part, chez les mâles comme chez les femelles, la présentation de cris de distance peut provoquer comme réponses une forte augmentation de l'activité des neurones du NCM et que, d'autre part, ces réponses s'habituent au fur et à mesure de la répétition de la présentation du cri. Un traitement auditif des cris de distance, qui ne repose pas sur la discrimination entre les différents types de cris, semble donc avoir lieu au sein du NCM, chez les deux sexes. De nombreuses études ont montré que la diffusion répétée de chants conspécifiques et de cris provoque une diminution de l'expression de *Zenk* ainsi que des réponses électrophysiologiques des neurones (Chew et al., 1995, 1996a, 1996b; Mello and Nottebohm, 1995; Stripling et al., 1997). La présentation d'un nouveau stimulus rétablit une forte expression du gène *Zenk* et de fortes réponses neuronales et ce phénomène d'habituation est d'autant plus important que la fréquence de répétition des stimuli auditifs est grand (Beckers and Gahr, 2010). En condition naturelle, les diamants mandarins vivent en groupes sociaux et le cri de distance est une des vocalisations la plus fréquemment émise par les individus. Face à une telle redondance, l'habituation des réponses peut être vue comme un mécanisme permettant l'analyse de la scène auditive afin de permettre la détection et la discrimination de nouvelles vocalisations (Ulanovsky et al., 2003, 2004; Malmierca et al., 2009; Beckers and Gahr, 2010). Le NCM pourrait donc être impliqué dans la détection de nouvelles vocalisations qui apparaissent dans la scène auditive et cette capacité serait reposerait sur l'existence de phénomènes de plasticité au sein de cette région, pouvant aller de la seconde (Beckers and Gahr, 2010) à 24h (Mello and Nottebohm, 1995) ou bien à plusieurs jours selon nos données et celles de Chew et al., (1995, 1996b).

L'ensemble des résultats de ma thèse chez le diamant mandarin suggère que le NCM joue un rôle dans le traitement et l'analyse des vocalisations de l'espèce dans la scène auditive, bien

que certains aspects, comme la représentation des cris familiers et inconnus chez les mâles, restent à explorer. Chez les femelles, l'expérience sociale au travers de la mémorisation des signaux de communication des individus peut façonner les propriétés des neurones d'une aire secondaire. Ces changements pourraient alors contribuer à modifier la représentation des paramètres acoustiques contenus dans les signaux ayant une signification pour les individus. En conclusion, les propriétés fonctionnelles des neurones du NCM ne sont donc pas fixées chez les oiseaux adultes, mais peuvent subir continuellement des changements pour s'adapter à l'environnement social des individus.

Chapitre 7.

Bibliographie

- Amin N, Doupe A, Theunissen F (2007) Development of selectivity for natural sounds in the songbird auditory forebrain. *Journal of neurophysiology* 97:3517–3531.
- Amin N, Gill P, Theunissen F (2010) Role of the zebra finch auditory thalamus in generating complex representations for natural sounds. *Journal of neurophysiology* 104:784.
- Apfelbeck B (2008) Behavioural and hormonal effects of social isolation and neophobia in a gregarious bird species, the European starling (*Sturnus vulgaris*). *Hormones and behavior* 54:435–441.
- Aubin T (1994) SYNTANA: a software for the SYNThesis and ANALysis of animal sounds. *Bioacoustics* 6:80–81.
- Aubin T, Mathevon N, Staszewski V, Boulinier T (2007) Acoustic communication in the Kittiwake *Rissa tridactyla*: potential cues for sexual and individual signatures in long calls. *Polar Biology* 30:1027–1033.
- Avey M, Phillmore L, MacDougall-Shackleton S (2005) Immediate early gene expression following exposure to acoustic and visual components of courtship in zebra finches. *Behavioural brain research* 165:247–253.
- Bailey D, Rosebush J, Wade J (2002) The hippocampus and caudomedial neostriatum show selective responsiveness to conspecific song in the female zebra finch. *Journal of neurobiology* 52:43–51.
- Beckers G, Gahr M (2010) Neural processing of short-term recurrence in songbird vocal communication. *PloS one* 5:e11129.
- Belin P, Fecteau S, Bédard C (2004) Thinking the voice: neural correlates of voice perception. *Trends in cognitive sciences* 8:129–135.
- Belin P, Zatorre RJ, Lafaille P, Ahad P, Pike B (2000) Voice-selective areas in human auditory cortex. *Nature* 403:309–312.
- Berwick R, Okanoya K, Beckers G, Bolhuis J (2011) Songs to syntax: the linguistics of birdsong. *Trends in cognitive sciences* 15:113–121.
- Bolhuis J, Gahr M (2006) Neural mechanisms of birdsong memory. *Nature reviews Neuroscience* 7:347–357.
- Bolhuis J, Hetebrij E, Den Boer-Visser A, De Groot J, Zijlstra G (2001) Localized immediate early gene expression related to the strength of song learning in socially reared zebra finches. *The European journal of neuroscience* 13:2165–2170.
- Bolhuis J, Zijlstra G, den Boer-Visser M, Van Der Zee E (2000) Localized neuronal activation in the zebra finch brain is related to the strength of song learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:2282–2285.
- Bottjer S, Miesner E, Arnold A (1984) Forebrain lesions disrupt development but not maintenance of song in passerine birds. *Science* 224:901–903.

- Campanella S, Belin P (2007) Integrating face and voice in person perception. *Trends in cognitive sciences* 11:535–543.
- Charrier I, Bloomfield L, Sturdy C (2004) Note types and coding in parid vocalizations. I: The chick-a-dee call of the black-capped chickadee (*Poecile atricapillus*). *Canadian Journal of Zoology* 779:769–779.
- Chew S, Mello C, Nottebohm F, Jarvis E, Vicario D (1995) Decrements in auditory responses to a repeated conspecific song are long-lasting and require two periods of protein synthesis in the songbird forebrain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92:3406–3410.
- Chew S, Vicario D, Nottebohm F (1996a) A large-capacity memory system that recognizes the calls and songs of individual birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:1950–1955.
- Chew S, Vicario D, Nottebohm F (1996b) Quantal duration of auditory memories. *Science (New York, NY)* 274:1909–1914.
- Clayton D (1997) Role of gene regulation in song circuit development and song learning. *Journal of neurobiology* 33:549–571.
- Cole AJ, Saffen DW, Baraban JM, Worley PF (1989) Rapid increase of an immediate early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation. *Nature* 340:474–476.
- Cynx J, Williams H, Nottebohm F (1990) Timbre Discrimination in Zebra Finch. *Journal of Comparative Psychology* 104:303–308.
- Dhondt A, Lambrechts MM (1992) Individual voice recognition in birds. *Trends in Ecology & Evolution* 7:178–179.
- Dooling R, Brown S, Klump G, Okanoya K (1992) Auditory perception of conspecific and heterospecific vocalizations in birds: evidence for special processes. *Journal of comparative psychology (Washington, DC : 1983)* 106:20–28.
- Doupe A, Kuhl P (1999) Birdsong and human speech: common themes and mechanisms. *Annual review of neuroscience* 22:567–631.
- Dunn A, Zann R (1996) Undirected song in wild zebra finch flocks: Contexts and effects of mate removal. *Ethology* 102:529–539.
- Dunn A, Zann R (1997) Effects of pair bond and presence of conspecifics on singing in captive zebra finches. *Behaviour* 134:127–142.
- Edeline J (1998) Learnind-induced physiological plasticity in the thalamo-cortical sensory systems : a critical evaluation of receptive field plasticity, map changes and their potential mechanisms. *Progress in neurobiology* 57:165–224.
- Edeline J, Pham P, Weinberger N (1993) Rapid development of learning-induced receptive field plasticity in the auditory cortex. *Behavioral neuroscience* 107:539–551.

- Forstmeier W, Burger C, Temnow K, Derégnaucourt S (2009) The genetic basis of zebra finch vocalizations. *Evolution; international journal of organic evolution* 63:2114–2130.
- Fritz J, Elhilali M, Shamma S (2005) Differential dynamic plasticity of A1 receptive fields during multiple spectral tasks. *Journal of Neuroscience* 25:7623–7635.
- Fritz J, Shaevitz S, Elhilali M, Klein D (2003) Rapid task-related plasticity of spectrotemporal receptive fields in primary auditory cortex. *Nature Neuroscience* 6:1216–1223.
- Galindo-Leon E, Lin FG, Liu R (2009) Inhibitory plasticity in a lateral band improves cortical detection of natural vocalizations. *Neuron* 62:705–716.
- Gehr D, Komiya H, Eggermont J (2000) Neuronal responses in cat primary auditory cortex to natural and altered species-specific calls. *Hearing research* 150:27–42.
- Gehr D, Capsius B, Gräbner P, Gahr M, Leppelsack H (1999) Functional organisation of the field-L-complex of adult male zebra finches. *NeuroReport* 10:375–380.
- Gentner T, Hulse S, Ball G (2004) Functional differences in forebrain auditory regions during learned vocal recognition in songbirds. *Journal of comparative physiology A, Neuroethology, sensory, neural, and behavioral physiology* 190:1001–1010.
- Gentner T, Margoliash D (2003) Neuronal populations and single cells representing learned auditory objects. *Nature* 424:669–674.
- George I, Cousillas H, Richard J, Hausberger M (2008) A potential neural substrate for processing functional classes of complex acoustic signals. *PloS one* 3:e2203.
- George I, Richard J, Cousillas H, Hausberger M (2011) No need to Talk, I Know You: Familiarity Influences Early Multisensory Integration in a Songbird's Brain. *Frontiers in behavioral neuroscience* 4:193.
- Ghazanfar A a, Chandrasekaran C, Logothetis NK (2008) Interactions between the superior temporal sulcus and auditory cortex mediate dynamic face/voice integration in rhesus monkeys. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 28:4457–4469.
- Ghazanfar A a, Maier JX, Hoffman KL, Logothetis NK (2005) Multisensory integration of dynamic faces and voices in rhesus monkey auditory cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 25:5004–5012.
- Glass I, Wollberg Z (1983a) Auditory cortex responses to sequences of normal and reversed squirrel monkey vocalizations. *Brain behavior and evolution* 22:13–21.
- Glass I, Wollberg Z (1983b) Responses of cells in the auditory cortex of awake squirrel monkeys to normal and reversed species-specific vocalizations. *Hearing Research* 9:27–33.
- Gobes S, Bolhuis J (2007) Birdsong memory: a neural dissociation between song recognition and production. *Current biology : CB* 17:789–793.

- Gobes S, Ter Haar S, Vignal C, Vergne A, Mathevon N, Bolhuis J (2009) Differential responsiveness in brain and behavior to sexually dimorphic long calls in male and female zebra finches. *The Journal of comparative neurology* 516:312–320.
- Grace J, Amin N, Singh N, Theunissen F (2003) Selectivity for conspecific song in the zebra finch auditory forebrain. *Journal of neurophysiology* 89:472–487.
- Green D, Swets J (1966) *Signal detection theory and psychophysics*. Wiley.
- Hackett T a, Stepniewska I, Kaas JH (1999) Prefrontal connections of the parabelt auditory cortex in macaque monkeys. *Brain research* 817:45–58.
- Hahnloser RH, Kotowicz A (2010) Auditory representations and memory in birdsong learning. *Current opinion in neurobiology* 20:332–339.
- Harris K, Henze D, Csicsvari J, Hirase H, Buzsáki G (2000) Accuracy of tetrode spike separation as determined by simultaneous intracellular and extracellular measurements. *Journal of Neurophysiology* 84:401.
- Hausberger M (1997) Social influences on song acquisition and sharing in the European starling (*Sturnus vulgaris*). In: *Social influences on vocal development* (Snowdon CT, Hausberger M, eds), pp.128–156. Cambridge University Press.
- Hausberger M, Richard-Yris M, Henry L, Lepage L, Schmidt I (1995) Song sharing reflects the social organization in a captive group of European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Journal of Comparative Psychology* 109:222–241.
- Hessler N, Doupe A (1999) Social context modulates singing-related neural activity in the songbird forebrain. *Nature neuroscience* 2:209–211.
- Huetz C, Gourévitch B, Edeline J (2011) Neural codes in the thalamocortical auditory system: from artificial stimuli to communication sounds. *Hearing research* 271:147–158.
- Huetz C, Del Negro C, Lebas N, Tarroux P, Edeline J (2006) Contribution of spike timing to the information transmitted by HVC neurons. *The European journal of neuroscience* 24:1091–1108.
- Huetz C, Philibert B, Edeline J (2009) A spike-timing code for discriminating conspecific vocalizations in the thalamocortical system of anesthetized and awake guinea pigs. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29:334–350.
- Jarvis E (2007) Neural systems for vocal learning in birds and humans: a synopsis. *Journal of ornithology / DO-G* 148:35–44.
- Jarvis E, Mello C, Nottebohm F (1995) Associative learning and stimulus novelty influence the song-induced expression of an immediate early gene in the canary forebrain. *Learning & Memory* 2:62–80.
- Jarvis E, Scharff C, Grossman M, Ramos J, Nottebohm F (1998) For whom the bird sings: context-dependent gene expression. *Neuron* 21:775–788.

- Jeanne J, Thompson J, Sharpee T, Gentner T (2011) Emergence of learned categorical representations within an auditory forebrain circuit. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 31:2595–2606.
- Karnath HO (2001) New insights into the functions of the superior temporal cortex. *Nature reviews Neuroscience* 2:568–576.
- Kayser C, Petkov C, Augath M, Logothetis N (2007) Functional imaging reveals visual modulation of specific fields in auditory cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 27:1824–1835.
- Kruse A, Stripling R, Clayton D (2004) Context-specific habituation of the zenk gene response to song in adult zebra finches. *Neurobiology of learning and memory* 82:99–108.
- Kuhl P, Williams K, Lacerda F, Stevens K, Lindblom B (1992) Linguistic experience alters phonetic perception in infants by 6 months of age. *Science* 255:606–608.
- Lambert JJ, Belelli D, Peden DR, Vardy AW, Peters J a. (2003) Neurosteroid modulation of GABAA receptors. *Progress in Neurobiology* 71:67–80.
- Latinus M, Belin P (2011) Human voice perception. *Current biology : CB* 21:R143–5.
- Liu R, Schreiner C (2007) Auditory cortical detection and discrimination correlates with communicative significance. *PLoS biology* 5:e173.
- Lohr B, Dooling R (1998) Detection of changes in timbre and harmonicity in complex sounds by zebra finches (*Taeniopygia guttata*) and budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Journal of comparative psychology (Washington, DC : 1983)* 112:36–47.
- Long KD, Salbaum JM (1998) Evolutionary conservation of the immediate-early gene ZENK. *Molecular biology and evolution* 15:284–292.
- Lu T, Liang L, Wang X (2001) Temporal and rate representations of time-varying signals in the auditory cortex of awake primates. *Nature neuroscience* 4:1131–1138.
- Malmierca MS, Cristaudo S, Pérez-González D, Covey E (2009) Stimulus-specific adaptation in the inferior colliculus of the anesthetized rat. *Journal of Neuroscience* 29:5483–5493.
- Margoliash D (1983) Acoustic parameters underlying the responses of song-specific neurons in the white-crowned sparrow. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 3:1039–1057.
- Marler P (2004) Bird calls: their potential for behavioral neurobiology. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1016:31–44.
- Mathevon N, Aubin T (2001) Sound-based species-specific recognition in the blackcap *Sylvia atricapilla* shows high tolerance to signal modifications. *Behaviour* 138:511–524.
- McCasland JS, Konishi M (1981) Interaction between auditory and motor activities in an avian song control nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 78:7815–7819.

- McGurk H, MacDonald J (1976) Hearing lips and seeing voices. *Nature* 264:746–748.
- McKenzie T, Hernandez AM, MacDougall-Shackleton S (2006) Experience with songs in adulthood reduces song-induced gene expression in songbird auditory forebrain. *Neurobiology of learning and memory* 86:330–335.
- Mello C (2004) Gene regulation by song in the auditory telencephalon of songbirds. *Frontiers Bioscience* 9:63–73.
- Mello C, Clayton D (1994) Song-induced ZENK gene expression in auditory pathways of songbird brain and its relation to the song control system. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 14:6652–6666.
- Mello C, Nottebohm F (1995) Repeated exposure to one song leads to a rapid and persistent decline in an immediate early genes response to that song in zebra finch telencephalon. *Journal of Neuroscience* 15.
- Mello C, Velho T, Pinaud R (2004) Song-induced gene expression: a window on song auditory processing and perception. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1016:263–281.
- Mello C, Vicario D, Clayton D (1992) Song presentation induces gene expression in the songbird forebrain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89:6818–6822.
- Merzenich M, DeCharms R (1996) Neural representations, experience, and change. In: *The MindBrain Continuum* (Llinas R, Churchland P, eds), pp.61–81. The MIT Press.
- Miller D (1979) The acoustic basis of mate recognition by female zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Animal Behaviour* 27:376–380.
- Müller C, Leppelsack H (1985) Feature extraction and tonotopic organization in the avian auditory forebrain. *Experimental Brain Research* 59:587–599.
- Nixdorf-Bergweiler B, Bischof H (2007) *A Stereotaxic Atlas Of The Brain Of The Zebra Finch, Taeniopygia Guttata, With Special Emphasis On Telencephalic Visual And Song System Nuclei in Transverse and Sagittal Sections*. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information.
- Nottebohm F, Arnold A (1976) Sexual dimorphism in vocal control areas of the songbird brain. *Science* 194:211–213.
- Nottebohm F, Stokes TM, Leonard CM (1976) Central control of song in the canary, *Serinus canarius*. *Journal of Comparative Neurology* 165:457–486.
- Okanoya K, Dooling R (1991) Perception of distance calls by budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) and zebra finches (*Poephila guttata*): assessing species-specific advantages. *Journal of comparative psychology* (Washington, DC : 1983) 105:60–72.
- Pallier C, Christophe A, Mehler J (1997) Language-specific listening. *Trends in Cognitive Sciences* 1:129–132.

- Palmer A (1995) Neural signal processing. *Hearing*:1995–1995.
- Perez E, Elie J, Soulage C, Soula H, Mathevon N, Vignal C (2012) The acoustic expression of stress in a songbird: Does corticosterone drive isolation-induced modifications of zebra finch calls? *Hormones and Behavior* 61:573–581.
- Petkov C, Kayser C, Steudel T, Whittingstall K, Augath M, Logothetis N (2008) A voice region in the monkey brain. *Nature neuroscience* 11:367–374.
- Phan M, Pytte C, Vicario D (2006) Early auditory experience generates long-lasting memories that may subserve vocal learning in songbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:1088–1093.
- Pinaud R, Fortes A., Lovell P, Mello C (2006) Calbindin-positive neurons reveal a sexual dimorphism within the songbird analogue of the mammalian auditory cortex. *Journal of neurobiology* 66:182–195.
- Pinaud R, Mello C (2007) GABA immunoreactivity in auditory and song control brain areas of zebra finches. *Journal of chemical neuroanatomy* 34:1–21.
- Pinaud R, Terleph T (2008) A songbird forebrain area potentially involved in auditory discrimination and memory formation. *Journal of Biosciences* 33:145–155.
- Rauschecker J, Tian B, Hauser M (1995) Processing of complex sounds in the macaque nonprimary auditory cortex. *Science (New York, NY)* 268:111–114.
- Recanzone G, Schreiner C, Merzenich M (1993) Plasticity in the frequency representation of primary auditory cortex following discrimination training in adult owl monkeys. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 13:87–103.
- Remage-Healey L, Bass AH (2006) A rapid neuromodulatory role for steroid hormones in the control of reproductive behavior. *Brain research* 1126:27–35.
- Remage-Healey L, Coleman M, Oyama R, Schlinger B (2010) Brain estrogens rapidly strengthen auditory encoding and guide song preference in a songbird. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:3852–3857.
- Remage-Healey L, Dong S, Chao A, Schlinger B (2012) Sex-specific, rapid neuroestrogen fluctuations and neurophysiological actions in the songbird auditory forebrain. *Journal of neurophysiology*:1621–1631.
- Remage-Healey L, Maidment N, Schlinger B (2008) Forebrain steroid levels fluctuate rapidly during social interactions. *Nature neuroscience* 11:1327–1334.
- Ribeiro S, Cecchi G, Magnasco M, Mello C (1998) Toward a song code: evidence for a syllabic representation in the canary brain. *Neuron* 21:359–371.
- Ross L, Saint-Amour D, Leavitt V, Javitt D, Foxe J (2007) Do you see what I am saying? Exploring visual enhancement of speech comprehension in noisy environments. *Cerebral cortex (New York, NY : 1991)* 17:1147–1153.

- Scharff C, Nottebohm F (1991) A comparative study of the behavioral deficits following lesions of various parts of the zebra finch song system: implications for vocal learning. *The Journal of neuroscience* 7.
- Schneider D, Woolley S (2010) Discrimination of communication vocalizations by single neurons and groups of neurons in the auditory midbrain. *Journal of neurophysiology* 103:3248–3265.
- Schnupp J, Hall T, Kokelaar R, Ahmed B (2006) Plasticity of temporal pattern codes for vocalization stimuli in primary auditory cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 26:4785–4795.
- Schnupp J, Nelken I, King A (2011) *Auditory Neuroscience, Making Sense of Sound*, MIT Press.
- Seltzer B, Pandya DN (1994) Parietal, temporal, and occipital projections to cortex of the superior temporal sulcus in the rhesus monkey: a retrograde tracer study. *Journal of Comparative Neurology* 343:445–463.
- Sen K, Theunissen F, Doupe A (2001) Feature Analysis of Natural Sounds in the Songbird Auditory Forebrain. *Journal of Neurophysiology*:1445–1458.
- Simpson H, Vicario D (1990) Brain pathways for learned and unlearned vocalizations differ in zebra finches. *The Journal of Neuroscience* 10:1541.
- Slater P, Jones A (1995) The timing of song and distance call learning in zebra finches. *Animal behaviour* 49:548–550.
- Strange W (1995) Speech perception and linguistic experience: Issues in cross-language research. *Phonetica* 56:105–107.
- Stripling R, Kruse A, Clayton D (2001) Development of song responses in the zebra finch caudomedial neostriatum: role of genomic and electrophysiological activities. *Journal of neurobiology* 48:163–180.
- Stripling R, Milewski L, Kruse A, Clayton D (2003) Rapidly learned song-discrimination without behavioral reinforcement in adult male zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Neurobiology of learning and memory* 79:41–50.
- Stripling R, Volman S, Clayton D (1997) Response modulation in the zebra finch neostriatum: relationship to nuclear gene regulation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 17:3883–3893.
- Sturdy C (2004) A social call. *Nature* 430:414.
- Svec L, Licht KM, Wade J (2009) Pair bonding in the female zebra finch: a potential role for the nucleus taeniae. *Neuroscience* 160:275–283.
- Terleph T, Mello C, Vicario D (2006) Auditory topography and temporal response dynamics of canary caudal telencephalon. *Journal of neurobiology* 66:281–292.

- Terleph T, Mello C, Vicario D (2007) Species differences in auditory processing dynamics in songbird auditory telencephalon. *Developmental Neurobiology*:1498–1510.
- Theunissen F, Doupe A (1998) Temporal and spectral sensitivity of complex auditory neurons in the nucleus HVc of male zebra finches. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 18:3786–3802.
- Theunissen F, Sen K (2000) Spectral-temporal receptive fields of nonlinear auditory neurons obtained using natural sounds. *The Journal of Neuroscience* 20:2315–2331.
- Theunissen F, Shaevitz S (2006) Auditory processing of vocal sounds in birds. *Current opinion in neurobiology* 16:400–407.
- Thompson J, Gentner T (2010) Song recognition learning and stimulus-specific weakening of neural responses in the avian auditory forebrain. *Journal of neurophysiology* 103:1785–1797.
- Tremere L, Jeong J, Pinaud R (2009) Estradiol shapes auditory processing in the adult brain by regulating inhibitory transmission and plasticity-associated gene expression. *The Journal of neuroscience* 29:5949–5963.
- Tremere L, Pinaud R (2011) Brain-generated estradiol drives long-term optimization of auditory coding to enhance the discrimination of communication signals. *The Journal of neuroscience* 31:3271–3289.
- Ulanovsky N, Las L, Farkas D, Nelken I (2004) Multiple time scales of adaptation in auditory cortex neurons. *Journal of Neuroscience* 24:10440–10453.
- Ulanovsky N, Las L, Nelken I (2003) Processing of low-probability sounds by cortical neurons. *Nature Neuroscience* 6:391–398.
- Uno H, Maekawa M, Kaneko H (1997) Strategies for harmonic structure discrimination by zebra finches. *Behavioural Brain Research* 89:225–228.
- Vates G, Nottebohm F (1995) Feedback circuitry within a song-learning pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92:5139–5143.
- Velho T, Lu K, Ribeiro S, Pinaud R, Vicario D, Mello C (2012) Noradrenergic control of gene expression and long-term neuronal adaptation evoked by learned vocalizations in songbirds. *PloS one* 7:e36276.
- Vicario D, Naqvi N, Raksin J (2001) Sex differences in discrimination of vocal communication signals in a songbird. *Animal behaviour* 61:805–817.
- Vignal C, Andru J, Mathevon N (2005) Social context modulates behavioural and brain immediate early gene responses to sound in male songbird. *The European journal of neuroscience* 22:949–955.
- Vignal C, Mathevon N (2011) Effect of acoustic cue modifications on evoked vocal response to calls in zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Journal of comparative psychology (Washington, DC : 1983)* 125:150–161.

- Vignal C, Mathevon N, Mottin S (2004) Audience drives male songbird response to partner's voice. *Nature* 430:448–451.
- Vignal C, Mathevon N, Mottin S (2008) Mate recognition by female zebra finch: analysis of individuality in male call and first investigations on female decoding process. *Behavioural processes* 77:191–198.
- Wallace CS, Withers GS, Weiler IJ, George JM, Clayton D, Greenough WT (1995) Correspondence between sites of NGFI-A induction and sites of morphological plasticity following exposure to environmental complexity. *Brain research Molecular brain research* 32:211–220.
- Wang X, Kadia S (2001) Differential Representation of Species-Specific Primate Vocalizations in the Auditory Cortices of Marmoset and Cat. *Journal of Neurophysiology*:2616–2620.
- Wang X, Merzenich M, Beitel R, Schreiner C (1995) Representation of a species-specific vocalization in the primary auditory cortex of the common marmoset: temporal and spectral characteristics. *Journal of neurophysiology* 74:2685–2706.
- Weinberger N (2003) The nucleus basalis and memory codes: Auditory cortical plasticity and the induction of specific, associative behavioral memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 80:268–284.
- Weinberger N (2004a) Experience-dependent response plasticity in the auditory cortex: issues, characteristics, mechanisms, and functions. *Springer Handbook of Auditory Research*.
- Weinberger N (2004b) Specific long-term memory traces in primary auditory cortex. *Nature reviews Neuroscience* 5:279–290.
- Werker J, Tees R (1984) Cross-language speech perception: Evidence for perceptual reorganization during the first year of life. *Infant Behavior and Development* 7:49–63.
- Werker JF, Tees R (1992) The Organization and Reorganization of Human Speech Perception. *Annual Review of Neuroscience* 15:377–402.
- Witte R, Kipke D (2005) Enhanced contrast sensitivity in auditory cortex as cats learn to discriminate sound frequencies. *Brain research Cognitive brain research* 23:171–184.
- Woolley S (2007) Acute effects of estrogen on neuronal physiology. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 47:657–680.
- Woolley S, Doupe A (2008) Social context-induced song variation affects female behavior and gene expression. *PLoS biology* 6:e62.
- Woolley S, Gill P, Fremouw T, Theunissen F (2009) Functional groups in the avian auditory system. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29:2780–2793.
- Zann R (1984) Structural variation in the zebra finch distance call. *Zeitschrift Für Tierpsychologie* 66:328–345.
- Zann R (1996) *The zebra finch : a synthesis of field and laboratory studies*, Oxford U.P.

Résumé

A l'heure actuelle, il reste largement à étudier comment le codage sensoriel des signaux vocaux de communication contribue à leur détection et à leur reconnaissance. Peu d'études se sont, en effet, penchées sur le codage des vocalisations au niveau des régions auditives en fonction de l'individu qui les produit et du degré de familiarité avec cet individu. Dans ce cadre, les oiseaux chanteurs sont un bon modèle parce qu'ils utilisent des vocalisations pour interagir et reconnaître leurs congénères et qu'ils possèdent, de plus, un ensemble de régions auditives. Parmi ces régions, le nidopallium caudomedian (NCM), une aire auditive analogue du cortex auditif secondaire chez les mammifères, est actuellement considérée comme une région spécialisée dans le traitement des vocalisations (chants et cris) de l'espèce : les neurones du NCM répondent plus fortement aux vocalisations de l'espèce qu'à celles d'une autre espèce. À partir de là, parce que chez le diamant mandarin, le cri de distance permet aux individus, mâles ou femelles, de reconnaître leur partenaire sexuel, nous avons cherché à savoir si, chez les femelles comme chez les mâles, les neurones du NCM montraient une discrimination dans leurs réponses auditives entre le cri d'individus connus (parmi lesquels figurait le partenaire sexuel) et ceux d'individus inconnus et si ces réponses reflétaient le degré de familiarité de ces vocalisations. Les enregistrements de l'activité des neurones du NCM, chez des diamants mandarins vigiles (grâce à un système de télémétrie) ou anesthésiés, lors de la présentation de cris de distance, ont révélé, chez les femelles vivant en couple et ayant été familiarisées avec un autre couple de diamants mandarins, une plus forte augmentation de l'activité lors de la diffusion des cris d'individus connus, mâles ou femelles, qu'aux cris d'individus inconnus. Une telle augmentation n'a pas été, en outre, observée chez des femelles contrôles qui n'avaient jamais entendu ces mêmes cris auparavant. De plus, ils ont indiqué que le nombre de neurones montrant un fort degré de sélectivité ainsi que la quantité d'information portée par les trains de potentiels d'action étaient plus importants chez les femelles vivant en couple que chez les femelles contrôles. En revanche, chez les mâles, bien que la plupart des neurones montrait des réponses lors de la diffusion des cris, aucune différence n'a été mise en évidence entre les cris d'individus connus et ceux d'inconnus. Nous avons alors cherché à savoir comment, d'un point de vue acoustique, les cris de distance étaient représentés au sein du NCM. En se basant sur une étude comportementale ayant déterminé quelles étaient les caractéristiques acoustiques qui contribuaient à la reconnaissance de ces cris, nous avons cherché à savoir si les neurones du NCM étaient sensibles à ces mêmes caractéristiques acoustiques. Les résultats ont montré que, chez les femelles, la suppression de la fréquence fondamentale et la modification du timbre du cri du partenaire sexuel ou du propre cri de l'oiseau provoquaient une forte diminution des réponses au sein du NCM alors que, chez les mâles, les réponses variaient selon le paramètre modifié et le type de cri présenté.

Nos résultats suggèrent donc que, chez le diamant mandarin, le NCM est impliqué dans le codage du cri de distance. Cependant, ils mettent en évidence des différences dans ce codage entre les mâles et les femelles. Chez les femelles, ce codage permet de discriminer entre les cris d'individus connus et ceux d'individus inconnus alors que chez les mâles, son rôle reste à être déterminé.

Chez les femelles, l'expérience sociale au travers de la mémorisation des signaux de communication des individus peut donc façonner les propriétés fonctionnelles des neurones d'une aire auditive secondaire. Ces propriétés pourraient donc continuellement subir des changements pour s'adapter à l'environnement social de l'individu.

Mots-clés : communication acoustique, reconnaissance vocale, oiseaux chanteurs, aire auditive secondaire, contexte social, mémorisation, plasticité.