

Variation du sex-ratio au nid chez la Chouette de Tengmalm (*Aegolius funereus*)*

Henry ROBERT¹ et Serge SORBI²

Le sex-ratio des jeunes Chouettes de Tengmalm au nid a été étudié par l'analyse de l'ADN. Un échantillon de 31 prélèvements a révélé un sex-ratio de 15 mâles pour 16 femelles. Une étude similaire suédoise mentionne un sex-ratio de 65 % de mâles pour 35 % de femelles. L'hypothèse d'une réponse physiologique adaptée de la femelle aux conditions environnementales différentes est avancée pour expliquer cette différence.

Introduction

Un des premiers à s'intéresser au sex-ratio des espèces animales fut FISHER qui, en 1930, expliquait que l'investissement des parents à produire autant de mâles que de femelles découlait d'une stratégie évolutive stable. En 1973, TRIVERS & WILLARD ont introduit l'idée que la "fitness" (adéquation d'un organisme au mode de vie de son espèce) de la descendance d'une espèce donnée pouvait varier en fonction du sexe en relation directe avec les conditions environnementales. Dans la même logique, BULL (1981) expliquait qu'au sein d'une même espèce, des populations vivant dans des milieux différents peuvent avoir des sex-ratios différents, adaptés aux conditions environnementales particulières.

Les espèces qui présentent un dimorphisme sexuel marqué par des différences de taille ou de poids sont des sujets intéressants pour l'étude du sex-ratio. Il est en effet vraisemblable qu'au sein de ces espèces, mâles et femelles aient des besoins énergétiques, des taux de croissance et des taux de mortalité différents. L'étude de ces espèces permet donc de savoir si des différences de sex-ratio sont dues à des stratégies évolutives ou à des taux de mortalité différents après la naissance.

La Chouette de Tengmalm (*Aegolius funereus*) présente un dimorphisme sexuel

(1) U.C.L., Laboratoire d'écologie et de biogéographie, Place Croix du Sud 5, B - 1330 Louvain-la-Neuve
Privé : Avenue Hellevelt 28, B - 1180 Bruxelles.

(2) Rue de la Grande Rhée 15, B - 4219 Meeffe. e-mail : serge.sorbi@mil.be

* Communication présentée à la Journée d'Etude Aves du 26 novembre 2000 à Namur.

marqué chez les adultes, les femelles (150 - 190 gr) étant près de 50% plus lourdes que les mâles (110 - 130 gr); nous avons mené quelques recherches sur le sex-ratio de cette espèce. Le but était de déterminer précisément la proportion de mâles et de femelles dans les nichées en utilisant les nouvelles méthodes moléculaires de sexage.

La détermination du sex-ratio à la naissance nous permettrait notamment de confronter nos résultats à la théorie de BULL en comparant la population belge de Chouette de Tengmalm à une population suédoise, pour laquelle la valeur du sex-ratio a été déterminée (HÖRNFELD *et al.*, 2000). Nous pourrions également apporter de nouveaux éléments à l'hypothèse de GREENWOOD (1980), selon qui les espèces aux femelles nomades (se déplaçant entre chaque nidification) et aux mâles sédentaires (après la dispersion post-juvénile), présentent un sex-ratio déséquilibré en faveur des mâles. De fait, chez la Chouette de Tengmalm, les mâles sont fidèles à leur domaine vital et régulièrement polygames alors que les femelles sont qualifiées de nomades.

Matériel et méthode

L'historique et l'évolution du statut de la Chouette de Tengmalm en Belgique depuis sa première reproduction en 1963 ont été synthétisés par SORBI (1995). A la fin des années quatre-vingt, plusieurs centaines de nichoirs ont été installés pour l'espèce, dont la majorité des reproductions ont lieu depuis lors dans ces nichoirs. Actuellement, l'espèce est présente dans les grands massifs d'épicéas (*Picea abies*) de haute Ardenne, où son effort de reproduction varie annuellement entre une trentaine et une centaine de cas de nidification (exceptionnellement 140 en 1996) (SORBI, 1995, 1998). Depuis 1987, l'espèce fait l'objet d'une surveillance attentive et la plupart des cas de nidification sont suivis systématiquement; les contrôles au nid nous ont permis de disposer des adultes et pulli nécessaires à nos travaux.

Zone d'étude

Deux grandes zones ont été prospectées lors de nos sorties sur le terrain : une sur le plateau des Hautes Fagnes (entre Malmedy, Eupen et la frontière allemande), l'autre sur le plateau des Tailles.

Capture des adultes et des jeunes

Afin de tester la méthode moléculaire de sexage et de mettre au point les manipulations en laboratoire, nous avons tout d'abord capturé des adultes en début de saison de reproduction, de février à avril. Deux méthodes ont été utilisées : la capture au "filet japonais" classique, avec ou sans stimulus [enregistrement de cris de détresse de Merle noir (*Turdus merula*), chant de Chouette de Tengmalm ou "bal-châtri" avec Mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*)] et la capture dans les nichoirs à l'aide d'une trappe qui se déclenche quand l'oiseau visite le nichoir. Cette méthode s'est révélée la plus appropriée : quatre mâles et sept femelles ont ainsi été capturés entre le 26 février et le 23 avril. Les jeunes ont été examinés avant leur envol des nichoirs, entre mai et juin.

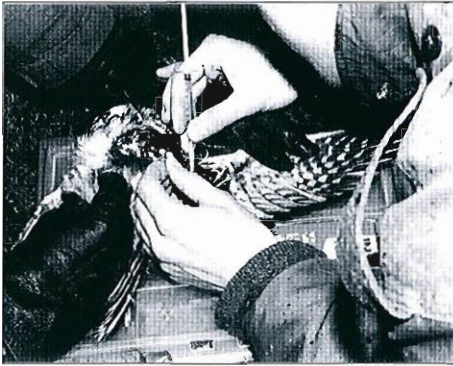


Photo 1 - Prélèvement d'une goutte de sang par ponction sur la veine brachiale.

Photo 2 - Ponction sur la veine brachiale d'un pullus. (Photos S. Sorbi)



Prélèvement des échantillons

Dans la majorité des cas, le type d'échantillon était du sang prélevé par ponction sur la veine brachiale à l'aide d'une aiguille de 0,45 mm montée sur une seringue (voir Photos 1 et 2). La goutte de sang (en moyenne 10 μ l) perlant était récoltée avec un tube hématocrite dans lequel le sang entre par capillarité. Un tampon d'ouate est ensuite appliqué à l'endroit de la ponction pour stopper le saignement qui s'arrête généralement de lui-même une fois la première goutte de sang prélevée; une poudre cicatrisante est ensuite appliquée. L'échantillon de sang est plongé dans une solution tampon (150 mM de NaCl, 50 mM de Tris-HCl et 1 mM d'EDTA à pH = 8) qui permet de conserver l'ADN intact. Les échantillons ainsi prélevés sont maintenus à une température inférieure à 10 °C pendant le reste de la nuit et ensuite conservés au congélateur à - 80 °C.

De l'ADN a également été prélevé sur des cellules de foie et de muscle de cadavres de poussins et sur des embryons provenant d'oeufs dont l'incubation n'a pas été menée à terme.

Méthode de sexage

Mise au point par GRIFFITHS (1998), cette méthode est basée sur la différence de taille qui existe entre des gènes présents sur les chromosomes sexuels, dénommés Z et W chez les oiseaux. Les mâles possèdent deux copies du chromosome Z et les femelles un chromosome Z et un chromosome W. Le gène en question est plus long d'environ 400 paires de bases sur le chromosome W que sur le chromosome Z. Le travail en laboratoire

consiste à amplifier la séquence, qui varie de taille selon le chromosome, par la technique de la PCR (Polymerase Chain Reaction). Dans la pratique, une fois l'ADN extrait des cellules (extraction au Chelex 100) et purifié, il est mis en solution avec des polymérase, des nucléotides libres et des amorces de nucléotides qui se fixent spécifiquement au début de la séquence à amplifier et qui permettent à la polymérase de commencer la réplication. Cette solution est soumise à des cycles de température hautes (qui permettent de séparer les brins d'ADN pour la réplication) et basses (qui permettent aux polymérase de fonctionner). Après une trentaine de cycles, on obtient 10^{12} copies de la séquence de départ. Après l'amplification, les fragments sont placés dans un gel d'électrophorèse qui les sépare selon leur taille. Si l'échantillon d'ADN provient d'une femelle, le gel d'électrophorèse révélera deux bandes, une correspondant à la portion de gène se trouvant sur le chromosome Z et l'autre correspondant à la portion de gène présente sur le chromosome W. Si l'échantillon amplifié provient d'un mâle, le gel d'électrophorèse ne comprendra qu'une seule bande qui correspond aux portions identiques de gènes qui se trouvent sur les deux chromosomes Z (voir photo 3).

Afin de tester la validité de la méthode pour notre étude, celle-ci a été utilisée sur des Chouettes de Tengmalm adultes, dont le sexe peut être déterminé de façon fiable grâce à la différence de poids importante entre les mâles et les femelles. Le sexe de 11 adultes a donc été déterminé sur le terrain à l'aide d'une simple balance de précision ou en détectant la présence éventuelle d'une plaque incubatrice (chez les femelles). Le sexage par le poids a ensuite été comparé aux résultats de l'analyse génétique réalisée sur les échantillons de sang prélevés sur ces adultes. La concordance parfaite des résultats obtenus en laboratoire et sur le terrain nous a permis de conclure à la fiabilité de la méthode génétique qui serait plus tard appliquée aux jeunes chouettes.

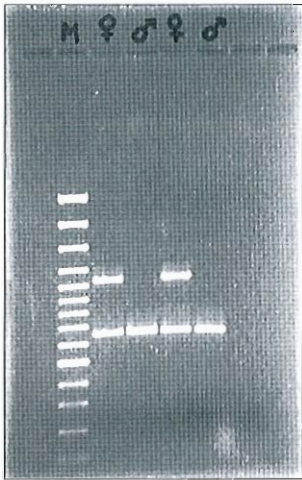


Photo 3 - Photographie du gel d'électrophorèse présentant les séquences d'ADN amplifiées de deux femelles et deux mâles. -
Photography of the electrophoresis gel showing the amplified DNA sequences of two males and two females.

Résultats

Nous avons récolté un échantillon de 31 prélèvements, dont 6 provenaient d'oeufs non éclos et 1 d'un cadavre de pullus. Ces prélèvements concernaient 10 cas de nidification, soit 24 % du total des cas recensés en 2000. Ils ont été effectués principalement sur des nichées complètes, toutefois la différence de taille entre le plus âgé et le plus jeune des pulli n'a pas toujours permis de réaliser toutes les prises de sang d'une nichée au même moment (la taille des plus jeunes ne permettant pas de réaliser le prélèvement).

Pour les nichées A1, A2 et D1, le plus jeune a été victime de cannisme avant notre deuxième passage et donc n'a pas fourni de sang. La nichée E2 a été abandonnée avant notre premier contrôle et n'était probablement pas complète. Ces quatre nichées n'ont donc pas fourni de données sur l'ensemble de la ponte. L'absence de mortalité différentielle des pulli mâles et des pulli femelles observée en Suède (HORNFEEDT *et al.*, 2000) nous permet d'estimer que ces pertes de données avaient autant de chance de concerner des mâles que des femelles et donc n'influencent pas le sex-ratio global de l'échantillon. Nous considérons donc que notre analyse porte sur le sex-ratio des jeunes au nid qui, dans l'état actuel des travaux réalisés sur le sujet, peut être considéré comme identique à celui des jeunes à l'envol.

Les analyses en laboratoire ont identifié 15 mâles pour 16 femelles, soit un sex-ratio bien équilibré. En ne tenant pas compte des quatre nichées incomplètes, on obtiendrait un sex-ratio de 11 mâles pour 9 femelles.

Statistiquement, avec 31 échantillons il est difficile de déterminer un biais significatif dans le sex-ratio. Il ne nous a pas été possible de prélever un échantillon plus grand étant donné le faible effort de reproduction de l'espèce (42 cas de nidification recensés pour la Belgique) et la faible productivité des nichées en 2000. Le nombre de cas de nidification est en effet corrélé avec la disponibilité en micro-mammifères, particulièrement avec le Mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*), qui présente des variations cycliques d'abondance avec un pic tous les trois ans environ (SORBI, obs. pers.). Nous avons également constaté cette année là, un taux de prédation élevé par la Martre (*Martes martes*) et l'Ecureuil commun (*Sciurus vulgaris*), qui sont les principaux prédateurs des pontes de chouettes, particulièrement les années pauvres en micro-mammifères.

Discussion

Mécanismes d'ajustement du sex-ratio

Certaines études montrent qu'il existe des espèces où la femelle est capable de contrôler la ségrégation des chromosomes lors de la méiose ou de sélectionner préférentiellement les ovules du sexe à favoriser (DIJKSTRA *et al.*, 1990; ELLEGREN *et al.*, 1996).

Il existe également des mécanismes écologiques pour favoriser un sexe plutôt que l'autre, basés sur des taux de survie différents selon le sexe et la date de ponte. Chez la Chouette de Tengmalm, il n'existe pas de tendances dans la répartition des sexes en fonction de la date de ponte et de l'ordre d'éclosion (HORNFEEDT *et al.*, 2000). Comme mentionné ci-dessus, ceci laisse présumer que l'ajustement éventuel du sex-ratio des jeunes à l'envol ne serait pas dû à une mortalité différentielle entre pulli mâles et femelles mais serait le résultat d'un phénomène physiologique chez la femelle qui permettrait d'obtenir des populations adaptées à leur environnement.

Tableau 1 - Détail des prélèvements et des résultats obtenus. - Detail of samples and of results

| N° | Etat | Tissu | Nichoir | Sexe | N° | Etat | Tissu | Nichoir | Sexe |
|----|---------|-------|---------|------|----|---------|---------|---------|------|
| 1 | Poussin | Sang | A1 | F | 17 | Poussin | Sang | B3 | F |
| 2 | Poussin | Sang | A1 | F | 18 | Poussin | Sang | D1 | F |
| 3 | Poussin | Sang | A1 | F | 19 | Poussin | Sang | D1 | M |
| 4 | Poussin | Sang | A1 | F | 20 | Poussin | Sang | D1 | F |
| 5 | Poussin | Sang | B1 | M | 21 | Poussin | Sang | E1 | M |
| 6 | Poussin | Sang | B1 | F | 22 | Poussin | Sang | E1 | F |
| 7 | Poussin | Sang | B1 | M | 23 | Poussin | Sang | E1 | M |
| 8 | Poussin | Sang | A2 | F | 24 | Poussin | Sang | E1 | M |
| 9 | Cadavre | Foie | A2 | M | 25 | Poussin | Sang | E1 | F |
| 10 | Poussin | Sang | C1 | F | 26 | Oeuf | Embryon | E2 | M |
| 11 | Poussin | Sang | C1 | F | 27 | Oeuf | Embryon | E2 | M |
| 12 | Poussin | Sang | B2 | F | 28 | Oeuf | Foie | C2 | M |
| 13 | Poussin | Sang | B2 | F | 29 | Oeuf | Foie | C2 | M |
| 14 | Poussin | Sang | B2 | M | 30 | Oeuf | Foie | C2 | M |
| 15 | Poussin | Sang | B3 | F | 31 | Oeuf | Foie | C2 | M |
| 16 | Poussin | Sang | B3 | M | | | | | |

Comparaison des différentes populations de Chouettes de Tengmalm

Lors de l'expansion d'une espèce, les individus se dispersent soit de proche en proche (et dans ce cas les paramètres démographiques seront les mêmes pour l'ensemble de la population), soit en effectuant des "bonds" de dispersion. Ces individus fondent alors des populations qui, selon la théorie de BULL, auront des paramètres démographiques différents de la population d'origine, en réponse à un environnement différent.

Les travaux menés sur la Chouette de Tengmalm en Suède (HORNVELDT *et al.*, 2000) ont mis en évidence une proportion de 65% de mâles, soit un sex-ratio de 65/35 chez les jeunes, sensiblement différent de celui que nous avons trouvé en Belgique. La différence entre les résultats suédois et les nôtres semble donc confirmer la théorie de BULL selon laquelle le sex-ratio peut être adapté à des conditions environnementales particulières. L'étude des paramètres environnementaux susceptibles d'influencer le sex-ratio apparaît dès lors comme particulièrement intéressante. HORNVELDT *et al.* (2000) précisent qu'ils ne peuvent pas expliquer le sex-ratio déséquilibré en faveur des mâles mis en évidence par leur étude. Nous pensons qu'une hypothèse peut être proposée si l'on tient compte de la différence de fidélité des mâles et des femelles au domaine vital. Chez la Chouette de Tengmalm, le mâle est fidèle à son domaine vital alors que les femelles ne le sont pas; en Scandinavie cela se traduit par un nomadisme hivernal important des femelles, qui recherchent des zones au climat moins rude. Les mâles quant à eux, obligés de rester sur place et d'affronter les rudes conditions météorologiques pour ne pas perdre leur territoire,

subissent probablement une mortalité plus importante. On peut dès lors penser que le sex-ratio en faveur des mâles est une stratégie pour compenser les pertes hivernales. Les hivers plus doux rencontrés à nos latitudes ne provoqueraient pas de mortalité différenciée chez les mâles et les femelles et donc le sex-ratio n'aurait pas besoin de favoriser l'un ou l'autre des sexes.

Cette hypothèse mettrait en évidence une stratégie commune à l'espèce; toutefois, dans notre étude, c'est le sex-ratio de l'ensemble des nichées analysées qui est équilibré et non pas celui de chaque nichée; cela veut-il dire que les femelles peuvent adapter le sex-ratio de leur descendance de manière contrôlée pour collaborer à une stratégie commune à l'ensemble de la population ? Dans ce cas, quel est l'élément déterminant le sex-ratio de chaque nichée ? Celui-ci est-il le résultat de conditions locales telles que la qualité de l'habitat, les conditions climatiques, la réponse à un déficit d'un sexe ou de l'autre dans un domaine géographique restreint ? Comment dès lors expliquer que ces sex-ratios, différents d'une nichée à l'autre, donnent, dans l'ensemble, un sex-ratio équilibré ? Pour répondre à ces questions, une analyse étalée sur plusieurs saisons de reproduction permettrait peut-être de mettre en évidence des variations dues aux changements des conditions environnementales.

Conclusion

Nos travaux ont permis d'appliquer une technique d'analyse moléculaire récente et de confirmer qu'elle était utilisable pour des échantillons de sang de Chouette de Tengmalm, mais également pour des tissus morts (cadavres et oeufs). Nos résultats fournissent une estimation ponctuelle sur le sex-ratio au nid de cette espèce; un échantillonnage plus important nous permettrait d'obtenir des résultats plus significatifs.

La comparaison des résultats obtenus par l'étude suédoise et par la nôtre permet de dégager des hypothèses pour vérifier la théorie de BULL (sex-ratio adapté aux conditions environnementales) et pour mettre en évidence certaines différences entre les populations de Chouette de Tengmalm. Les différentes questions suscitées par ces hypothèses pourraient servir de protocole à une analyse de sex-ratio sur un plus grand nombre de prélèvements, étalée sur plusieurs saisons de reproduction et réalisée parallèlement dans des régions aux conditions environnementales semblables aux nôtres (Allemagne par exemple).

Une comparaison du sex-ratio à la naissance et à l'envol contribuerait à vérifier les résultats de HÖRNFELD. Il serait également intéressant, mais difficile, de comparer ces résultats au sex-ratio de la population adulte afin de mettre en évidence les différences de mortalité entre mâles et femelles. Ceci permettrait de mettre en oeuvre un modèle capable d'estimer les paramètres démographiques, tels que taux de reproduction et taux de survie, nécessaires à la stabilité des différentes populations de Chouette de Tengmalm.

REMERCIEMENTS - Cette étude a fait l'objet d'un mémoire pour l'obtention du diplôme de licencié en sciences zoologiques de l'Université de Louvain sous la direction du professeur M. Baguette et sous la supervision du Dr Ch. Vansteenwegen, que je tiens à remercier pour leurs conseils.

SUMMARY - Variation of Tengmalm's Owl (*Aegolius funereus*) sex ratio in nest.

Among some species, the sex ratio adaptability may be due to evolutive physiological strategies, or to different mortality rates after birth. The species showing a sexual dimorphism marked by differences of weight, and therefore with different energetic needs, are interesting subjects for the sex ratio studies. The Tengmalm's Owl sex ratio in the nest, in Haute Ardenne (Belgium), has been studied through the DNA analysis of blood sampling, using the technic of PCR (Polymerase Chain Reaction). 31 blood samples revealed a sex ratio of 15 males and 16 females. A similar study lead in Sweden mentions a sex ratio of 65% of males and 35% of females. An hypothesis to explain this difference can be that in Scandinavia, the males have to resist to hard winter conditions to defend their territory, and have a higher mortality rate, whereas the females are nomad. In our more tempered regions, the males do not meet the same climatic constraints. These differences in the sex ratio seem to corroborate Bull's theory, that the sex ratio can vary according to specific environment conditions.

Bibliographie

- BULL, J.J. (1981) : Sex Ratio Evolution when Fitness varies. *Heredity*, 46 : 9 - 26.
- DIJKSTRA, C., DAAN, S., BUKER, J.B. (1990) : Adaptive seasonal variation in the sex ratio of Kestrel broods. *Functional Ecology*, 4 : 143 - 147.
- ELLEGREN, H., GUSTAFSSON, L., SHELDON, B.C. (1996) : Sex ratio adjustment in relation to paternal attractiveness in wild bird population. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93 : 723 - 728.
- FISCHER, R.A. (1930) : *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford University Press. Oxford, N.J., U.S.A.
- GREENWOOD, J.P. (1980) : Mating systems, phyloptry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour*, 28 : 1140 - 1162.
- GRIFFITHS, R., DOUBLE, M.C., ORR, K., DAWSON, R.J.G. (1998) : A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, 7 : 1071 - 1075.
- HORNFELODT, B., CARLSSON, B.-G., LOFGREN, O., EKLUND, U. (1990) : Effect of food supply on breeding performance in Tengmalm's Owl (*Aegolius funereus*). *Canadian Journal of Ecology*, 68 : 522 - 530.
- HORNFELODT, B., HIPKISS, T., FRIDOLFSSON, A.-K., EKLUND, U., ELLEGREN, H. (2000) : Sex ratio and fledgling success of supplementary-fed Tengmalm's Owl broods. *Molecular Ecology*, 9 : 187 - 192.
- SORBI, S. (1995) : La Chouette de Tengmalm (*Aegolius funereus*) en Belgique. Synthèse et mise à jour du statut. *Aves*, 32 : 101 - 132.
- SORBI, S. (1998) : L'avifaune sylvicole évolue-t-elle favorablement ? Une illustration par l'étude d'un grand cavernicole : La Chouette de Tengmalm (*Aegolius funereus*) in Santé et Biodiversité en Région Wallonne, Acte des Colloques. *Région Wallonne. Division Nature et Forêts* : 181 - 188.
- TRIVERS, R.L. & WILLARD, D.E. (1973) : Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science*, 179 : 90 - 92.