



Mésange charbonnière mâle, hiver 2021. © Solène Goury

Impact de l'urbanisation sur la qualité spermatique de la mésange charbonnière

Parus major

Stage de 2 mois encadré par Josefa BLEU, Sylvie MASSEMIN et Agnès SAULNIER, au sein de l'équipe ADAGE du département Écologie, Physiologie et Éthologie (DEPE)

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier ma maîtresse de stage Josefa Bleu, maître de conférence, qui m'a permis d'effectuer mon stage à l'IPHC et qui m'a très bien accueillie au laboratoire. Grâce à la confiance qu'elle m'a accordée, j'ai pu m'épanouir dans les missions qui m'étaient confiées. Je remercie aussi Sylvie Massemin, maître de conférence également, pour son sourire et son dynamisme qui ont rendu les journées de terrain plus ensoleillées qu'elles ne l'étaient. Merci à Agnès Saulnier, doctorante en dernière année de thèse, pour sa persévérance et pour sa bienveillance à mon égard tout au long de mon stage. Enfin, merci aux autres membres de l'équipe que j'ai pu accompagner sur le terrain, passionnés par leur travail et m'ayant fait part de leurs expériences de vie professionnelle.

Résumé

L'urbanisation entraîne des changements environnementaux rapides pouvant affecter la biodiversité, notamment la faune sauvage. Des modifications sont observées à différentes échelles, de la communauté aux traits d'histoire de vie des espèces. Un des paramètres connus pour être impacté est le succès reproducteur, mais peu d'études ont testé les effets de l'urbanisation sur un indicateur de la fertilité des mâles qu'est la qualité spermatique. Le but de cette étude était de tester si les différences de succès d'éclosion des mésanges charbonnières *Parus major* observées entre des habitats urbanisés ou forestiers pouvaient être dues à des différences de cet indicateur. Des mesures morphologiques des spermatozoïdes ainsi que de densité spermatique ont pour cela été effectuées sur deux populations sauvages de *P. major*, dans la ville de Strasbourg et la forêt de la Wantzenau. Puis, ces paramètres de qualité spermatique ont été mis en lien avec le succès d'éclosion de l'année. En 2021, aucune différence dans le succès d'éclosion n'a été trouvée entre les deux sites. En ce qui concerne les analyses de qualité spermatique, seule la taille de la tête des spermatozoïdes a été trouvée plus petite en ville. Enfin, aucun paramètre de qualité spermatique n'était corrélé au succès d'éclosion. Les résultats soulèvent une hypothèse selon laquelle les oiseaux des villes ne seraient pas forcément en moins bonne condition que ceux en forêt. Néanmoins, cette étude préliminaire reste à approfondir, notamment en testant d'autres facteurs physiologiques qui pourraient entrer en jeu, comme le stress oxydatif ou les hormones, et aussi en testant le lien qui pourrait exister entre morphologie et performances des spermatozoïdes.

Table des matières

INTRODUCTION	1
MATERIEL ET METHODES	4
1. Modèle biologique	4
2. Méthodes	5
SITE D'ÉTUDE ET ÉCHANTILLONNAGE	5
MESURES DE LA QUALITÉ SPERMATIQUE	6
Mobilité des spermatozoïdes	6
Densité de spermatozoïdes	6
Morphologie des spermatozoïdes	7
ANALYSES STATISTIQUES	8
Succès d'éclosion ville/forêt	9
Paramètres de qualité spermatique ville/forêt	9
Qualité spermatique et succès d'éclosion	9
RESULTATS	10
1. Succès d'éclosion	10
2. Qualité spermatique	10
Densité spermatique	10
Morphologie des spermatozoïdes	11
3. Qualité spermatique et succès d'éclosion	12
DISCUSSION	12
1. Succès d'éclosion	12
2. Densité spermatique	13
3. Morphologie des spermatozoïdes	14
4. Qualité spermatique et succès d'éclosion	14

Avant-propos

Le sujet de ce stage s'inscrit dans un projet à long terme sur les mésanges charbonnières, visant à comprendre leurs réponses physiologiques et comportementales face à l'urbanisation. Ce projet est mené par des membres de l'équipe Adaptation Des Animaux et Gestion Environnementale (ADAGE), dont la mission principale est d'étudier comment la faune sauvage réagit face aux changements environnementaux. Depuis 2015, chaque année, les mésanges charbonnières de la ville de Strasbourg et de la forêt de la Wantzenau sont suivies durant leur période de reproduction. Cette année, l'équipe cherche à tester si les différences observées entre ces deux habitats pourraient être dues à la fertilité des mâles.

INTRODUCTION

Depuis les débuts de son expansion, l'Homme modifie les écosystèmes. La forte croissance démographique entraîne la conversion des habitats naturels en zones anthropisées comme les surfaces agricoles, les réseaux de transports et les zones de bâtis (Cucchi et al. 2017). Le processus d'urbanisation, un phénomène d'expansion des villes et de concentration des populations humaines en est un exemple marquant. On peut considérer qu'il existe un gradient urbain (Marzluff, Bowman, et Donnelly 2001), le long duquel les perturbations humaines sont de plus en plus présentes. Il se traduit par un gradient de perte d'habitat naturel : ces espaces sont rognés et fragmentés, devenant même inexistantes dans les zones les plus urbanisées (McKinney 2002). L'urbanisation constitue ainsi une cause majeure du déclin de la biodiversité de nos jours (Marzluff, Bowman, et Donnelly 2001). La perte de végétation en termes de densité mais aussi de diversité, entraîne une diminution de la richesse spécifique pour de nombreux taxons du monde animal (McKinney 2002). À cela s'ajoutent d'autres facteurs altérant le milieu de vie de la faune, comme le dérangement humain, les nuisances sonores, la pollution chimique et lumineuse (Sepp et al. 2018).

Cependant, toutes les espèces ne réagissent pas de la même manière face à l'urbanisation. Alors que certaines sont favorisées, d'autres sont totalement intolérantes à cet habitat. L'impact de l'urbanisation est particulièrement étudié chez les oiseaux, car c'est un taxon largement présent et facilement observable dans le paysage urbain (Dauwe et al. 2004). Sur toutes les espèces d'oiseaux répertoriées dans le monde, seules 20% d'entre elles sont retrouvées en ville (Aronson et al. 2014). De plus, les études portant sur la structure de ces communautés s'accordent sur un déclin de la diversité spécifique en ville conjoint à une augmentation de la densité des populations des quelques espèces parvenant à s'adapter à cet environnement contraignant. Le Suivi Temporel des Oiseaux communs en France de 2001 à 2005 a permis de montrer que ce sont principalement les espèces généralistes et omnivores qui semblent favorisées, entraînant un effet d'homogénéisation biotique (Devictor, Julliard, et Jiguet 2008). Les villes agiraient ainsi comme des filtres, où seules les espèces présentant des traits écologiques ou biologiques leur permettant de tolérer les conditions urbaines pourraient s'implanter (McKinney 2006 ; Croci, Butet, et Clergeau 2008). De ce fait, suivant la manière dont l'urbanisation affecte la faune, les espèces sont classées en trois catégories. Celles qui prolifèrent en milieu urbain sont classées parmi les exploiters urbains. Les adapteurs urbains, eux, tolèrent la ville mais conservent une préférence pour les milieux naturels. La mésange

charbonnière *Parus major* en fait partie. Enfin, les espèces qui ne supportent pas du tout l'urbanisation sont qualifiées d'éviteurs urbains (Isaksson 2018).

Les changements liés à l'urbanisation ne sont pas seulement visibles sur les communautés, mais aussi aux niveaux populationnels et individuels. Des études se sont intéressées à l'impact de l'urbanisation sur les traits d'histoire de vie des espèces (Marzluff, Bowman, et Donnelly 2001). Plusieurs d'entre elles relèvent une meilleure survie des oiseaux urbains, mais un succès reproducteur plus faible, surtout chez les passereaux (Sepp et al. 2018). Chez la mésange charbonnière notamment, plusieurs traits liés à la reproduction montrent des différences entre habitats urbanisés et forestiers et ce à plusieurs stades de la reproduction. Le succès d'envol des jeunes est meilleur dans les zones non urbanisées, et leur masse est en moyenne plus élevée (Chamberlain et al. 2009). Leur taux de croissance et de survie sont également plus importants (Bailly et al. 2016). Le principal facteur responsable de ces observations semble être la disponibilité et la qualité des ressources alimentaires (Chamberlain et al. 2009 ; Bailly et al. 2016). Des dates de pontes plus précoces sont cependant relevées en ville (Chamberlain et al. 2009 ; Satgé et al. 2019) et pourraient s'expliquer par des températures plus élevées (Phillimore et al. 2016) ou encore par la pollution lumineuse (Kempnaers et al. 2010). Enfin, des différences dans les tailles de ponte sont également observées, avec des couvées plus petites en ville (Chamberlain et al. 2009 ; Bailly et al. 2016 ; Satgé et al. 2019). Cela pourrait résulter d'une contrainte ou d'une réponse adaptative liée au manque de ressources (Chamberlain et al. 2009).

Une des différences observées en termes de succès reproducteur est une diminution du succès d'éclosion en ville chez la mésange charbonnière (Wawrzyniak et al., 2020 ; Saulnier et al., en préparation). Cela pourrait être lié à des différences physiologiques entre les adultes, notamment leur fertilité. Dans un premier temps, les femelles n'investissent pas de la même manière dans les œufs entre habitat urbanisé et forestier. Certains éléments, notamment des acides gras, sont essentiels au développement embryonnaire et sont retrouvés en moins grande quantité dans les œufs en ville (Toledo et al. 2016). Des résultats similaires sont observés pour certains caroténoïdes (Isaksson, Johansson, et Andersson 2008) dont le rôle antioxydant permet d'assurer un bon succès d'éclosion (Møller, Karadas, et Mousseau 2008). Ces différences d'investissement montrent que l'environnement dans lequel évolue la femelle peut avoir des conséquences sur la qualité des œufs et donc sur la survie des jeunes.

Dans un second temps, cette différence dans le nombre d'œuf éclos pourrait également être due à un problème de fertilité des mâles. Un bon indicateur de ce paramètre est la qualité spermatique, notamment chez les espèces aux accouplements multiples de la femelle (Yang,

Zhang, Wang, Yang, et al. 2020). La polyandrie étant très commune dans la plupart des taxons du monde animal (Pizzari et Parker 2009), y compris chez les oiseaux, il en résulte une compétition spermatique dont l'issue déterminera le succès reproducteur du mâle (Snook 2005). C'est le cas chez la mésange charbonnière, qui est monogame sociale mais peut être engagée dans des copulations hors couple.

La compétitivité des spermatozoïdes se caractérise non seulement par leur nombre, mais aussi par leur qualité. Ce dernier trait peut être défini par leur taille et morphologie, leur longévité ou encore leur mobilité. La morphologie des spermatozoïdes est souvent utilisée comme critère de qualité spermatique, car elle semble prédire leurs performances, à savoir leur vitesse ou leur viabilité. Chez la mésange charbonnière, les spermatozoïdes les plus longs semblent plus véloces (Losdat et Helfenstein 2018). Cependant, alors qu'au niveau interspécifique, la longueur des spermatozoïdes semble déterminer leur vitesse (Lüpold et al. 2009), les résultats d'expériences réalisées au niveau intraspécifique en utilisant le ratio tête/flagelle (proposé comme étant un meilleur prédicteur de la vitesse plutôt que la longueur totale des spermatozoïdes) ne vont pas dans le même sens chez le moineau domestique, *Passer domesticus* (Cramer et al. 2015 ; Helfenstein, Podevin, et Richner 2010). Il est donc important de continuer les investigations pour mieux comprendre le lien qui existe entre morphologie et performances des spermatozoïdes.

Des études récentes ont testé l'effet de la pollution chimique sur la qualité spermatique. L'exposition expérimentale à des polluants par voie orale semble affecter plusieurs paramètres. En effet, les néonicotinoïdes ont provoqué une diminution de la densité de spermatozoïdes chez le moineau domestique (Humann-Guillemot et al. 2019), et le plomb a diminué le pourcentage de spermatozoïdes mobiles chez la perdrix rouge *Alectoris rufa* (Vallverdú-Coll et al. 2016). Chez la mésange bleue, *Cyanistes caeruleus*, en milieu naturel, le nombre de spermatozoïdes retrouvés dans la couche périvitelline des œufs étaient plus faibles sur un site pollué aux métaux lourds, à savoir l'arsenic, le plomb, le cadmium et l'argent (Dauwe et al. 2004). L'urbanisation pourrait également avoir un impact sur la qualité spermatique de manière indirecte. En effet, le stress oxydant, pouvant être provoqué par l'urbanisation (Isaksson 2015), peut altérer les spermatozoïdes et causer des problèmes de fertilité chez les oiseaux (Rojas Mora et al. 2017). Ce stress oxydant peut en ainsi induire un mécanisme d'apoptose cellulaire dans les testicules (Shao et al. 2018).

Sachant qu'en milieu urbain, les oiseaux peuvent être exposés à une multitude de facteurs de stress notamment des cocktails de polluants (Isaksson 2015), tester l'impact de l'urbanisation sur la fertilité des mâles semble essentiel pour mieux comprendre le succès

reproducteur plus faible observé en ville. Chez les oiseaux, aucune étude n'a encore tenté d'évaluer la qualité spermatique des individus urbains et de la comparer à celle des individus en forêt. Afin de tester cette hypothèse, nous avons choisi la mésange charbonnière comme espèce modèle car elle est présente en ville comme en forêt et accepte de nicher dans les nichoirs posés par l'Homme. Plus précisément, nous avons suivi les mésanges lors de leur reproduction sur deux sites (une ville et une forêt) afin de connaître leur succès reproducteur. Nous avons également capturé les adultes et réalisé des prélèvements de sperme sur les mâles. Des analyses de qualité spermatique, à savoir des comptages cellulaires et des mesures morphologiques des spermatozoïdes, ont ainsi été réalisées. Puis, ces paramètres de qualité spermatique ont été mis en lien avec le succès reproducteur de l'année, et enfin comparés entre les deux milieux étudiés afin de tester l'effet de l'urbanisation.

D'après les données des années précédentes, nous pouvons proposer comme prédictions que le succès reproducteur devrait être plus faible en ville qu'en forêt. Concernant la qualité spermatique des mésanges, elle devrait être globalement moins bonne chez les individus urbains, c'est-à-dire qu'elle pourrait se traduire par une baisse de densité spermatique ainsi que des différences de morphologie comme des spermatozoïdes plus petits. Leur morphologie pourrait aussi être corrélée à certains paramètres de mobilité, notamment leur vitesse. Enfin, on pourrait s'attendre à une corrélation positive de ces résultats avec le succès d'éclosion.

MATERIEL ET METHODES

1. Modèle biologique

La mésange charbonnière (*Parus major*) est un passereau de la famille des paridés, dont l'aire de répartition recouvre toute l'Europe et une partie de l'Asie. C'est une espèce facilement identifiable grâce à son ventre jaune, traversé par une bande médiane noire, la cravate. Un léger dimorphisme sexuel permet de distinguer le mâle de la femelle : la bande médiane est plus épaisse entre les pattes, alors que chez la femelle, elle s'affine et laisse place à la plaque incubatrice en période de reproduction (Svensson, Mullarney, et Zetterström 2020).

La mésange charbonnière est présente dans toutes les zones arborées, de préférence caducifoliées, qu'elles soient naturelles ou artificielles. Elle présente une niche écologique peu contrainte, ce qui lui permet de s'installer dans des types d'habitats très variés, notamment dans les parcs et les jardins, même en ville. Alors que son régime alimentaire se compose essentiellement de fruits et de graines en hiver, elle devient insectivore à la venue du printemps.

Ce passereau est une espèce socialement monogame. Les individus forment des couples en période de reproduction, qui défendent leur territoire. Cependant, ils sont régulièrement engagés dans des copulations hors couple (Blakey 1994 ; Brun et al. 1999), entraînant une forte compétition spermatique. En dehors de cette période de reproduction, les mésanges sont moins agressives et ont plutôt tendance à vivre en groupe.

La nidification a lieu d'avril à juin avec des variations selon les années et les sites. La mésange charbonnière est une espèce cavernicole qui utilise tout type de cavités, et s'installe volontiers dans des nichoirs artificiels. La femelle y construit son nid, constitué de mousse, poils, plumes et autres matériaux que le mâle vient lui apporter. La taille des couvées est généralement de 5 à 12 œufs. Après 13 ou 14 jours d'incubation, les poussins sont nourris par les deux parents puis quittent le nid aux alentours de 19 à 20 jours, et sont nourris encore une vingtaine de jours hors du nid (Oiseaux.net 2017). Il n'est pas rare que la femelle pondre une deuxième couvée (Brun et al. 1999), mais ce n'est pas toujours le cas.

2. Méthodes

SITE D'ÉTUDE ET ÉCHANTILLONNAGE

Le suivi reproducteur des couples a été effectué lors de la première ponte sur deux sites : la ville de Strasbourg et la forêt de la Wantzenau, correspondant respectivement à des habitats urbanisés ou forestiers. Alors que la Wantzenau constitue un site à part entière, les nichoirs en ville sont situés sur plusieurs sous-sites au sein de la matrice urbaine. Les sites urbains sont représentatifs de l'hétérogénéité de la ville, c'est-à-dire qu'ils sont plus ou moins végétalisés ; ce sont par exemple des parcs, bords de route, etc. (voir figure 1 en annexe). Le suivi a été réalisé sur 223 nichoirs à mésanges installés préalablement, dont 133 en ville et 90 en forêt. Au total, sur tous les nichoirs suivis, 31 étaient occupés par des mésanges charbonnières en centre-ville et 39 à la Wantzenau, correspondant respectivement à des taux d'occupation de 23% et de 43% (voir tableau 1 en annexe).

Les paramètres de reproduction sont estimés par des visites régulières au nichoir. On sait que les mésanges pondent un œuf par jour à partir du début de ponte (Géroutet 1963), ce qui permet de dater le jour où le premier œuf a été pondu. Les dates d'éclosion quant à elles, sont déterminées en estimant l'âge des jeunes lors du contrôle des éclosions, grâce à leur masse et leur apparence, par exemple leur couleur ou le stade de développement des plumes. Le taux d'éclosion est calculé en divisant le nombre de poussins éclos par la taille de ponte, à savoir le nombre d'œufs maximal retrouvés dans le nid. Le nombre de poussins éclos correspond à la taille de ponte moins le nombre d'œufs non éclos, afin de comptabiliser aussi la mortalité post-

éclosion. Enfin, le nombre de jeunes à l'envol est aussi déterminé au moment du baguage de ceux-ci, soit lorsqu'ils ont 14 à 15 jours.

Les mâles sont capturés dans les nichoirs au moment du nourrissage des jeunes, au minimum 8 jours après leur éclosion pour minimiser le risque d'abandon de couvée et avant que ceux-ci aient 15 jours pour éviter un envol trop précoce. Chaque mâle capturé est soit bagué, soit identifié comme un contrôle s'il possède déjà une bague. Des mesures de la taille du tarse, de la tête et de l'aile, ainsi que de la masse, sont également effectuées. Les individus sont classés en deux catégories d'âge, 2 ans (individu dans leur seconde année) ou plus de 2 ans, sur la base de la couleur de leurs rémiges. Puis, le sperme est collecté à l'aide d'un micro capillaire en réalisant un massage cloacal (Humann-Guillemot et al. 2019). Au total, ces manipulations ont été effectuées sur 18 mâles en ville et 20 mâles en forêt (correspondant à des taux de capture respectifs de 58% et 51%), sur une période de deux semaines, du 29 avril au 15 mai 2021.

MESURES DE LA QUALITÉ SPERMATIQUE

Mobilité des spermatozoïdes

Pour chaque individu, 2 μ L de sperme sont dilués dans un aliquote de 20 μ L de DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), préalablement déposé sur une plaque chauffante à 40°C, correspondant à la température interne moyenne des passereaux (Prinzinger, Preßmar, et Schleucher 1991). Le DMEM est une solution contenant du glucose, du pyruvate de sodium et de la L-glutamine et correspond à un milieu de culture cellulaire permettant de conserver au maximum les spermatozoïdes. Environ 3 μ L de la solution obtenue sont ensuite déposés dans une chambre de lame Leja placée sous microscope (grossissement x400). Après visualisation sur le logiciel Epiphan Capture Tool, grâce à une caméra HD reliée à l'ordinateur, même après plusieurs essais, les spermatozoïdes n'étaient jamais suffisamment mobiles pour pouvoir ensuite exploiter les vidéos. C'est pourquoi nous n'avons pas donné suite aux analyses de la mobilité des spermatozoïdes, qui devait être une grande part du projet originel.

Densité de spermatozoïdes

Juste après le prélèvement, 0,2 μ L de sperme sont dilués dans 9,8 μ L de solution tampon composée de 10% de DMSO (Dyméthylsulfoxyde) et de 90% de NBS (Newborn bovine serum). Puis cette préparation dont le facteur de dilution est égal à 50 est d'abord conservée dans une glacière jusqu'à la fin de journée, puis à -80°C jusqu'à l'analyse. La densité de spermatozoïdes est ensuite déterminée par comptage cellulaire dans des chambres de Neubauer. Pour cela, 2 μ L de solution sont dilués dans 38 μ L de PBS (tampon phosphate salin), afin

d'obtenir un facteur de dilution final de 1000. Les échantillons trop concentrés sont dilués à 1 μL pour 39 μL (dilution x2000) voire à 1 μL pour 79 μL (dilution x4000).

Dix microlitres de cette solution finale sont ensuite placés dans chacune des deux chambres, recouvertes par une lamelle afin de pouvoir procéder au comptage à l'aide d'un microscope optique (x400). Chaque chambre est découpée en 9 carrés délimités par trois lignes, comprenant eux-mêmes 16 carrés délimités par une ligne seule. Le comptage est effectué sur deux aires de 16 carrés, en prenant l'une et l'autre en diagonale. Au total, le comptage est donc effectué sur 32 carrés. Les spermatozoïdes sur le bord droit ou du bas ne sont pas comptés, contrairement à ceux sur le bord gauche et du haut (Humann-Guillemot et al. 2019) (Figure 1). La densité spermatique est enfin calculée en divisant le nombre de cellules comptées par le volume de liquide contenu dans les zones de comptage, multiplié par le facteur de dilution. Sachant que la profondeur de chambre est de 0.1 mm, et que la surface d'une aire est de 1mm², alors le volume de la zone de comptage est égal à 0.2 μL . On obtient la formule suivante : $Densité\ spermatique = Facteur\ de\ dilution \times \frac{Nombre\ de\ spermatozoïdes}{Volume\ (0.2\ \mu\text{L})}$

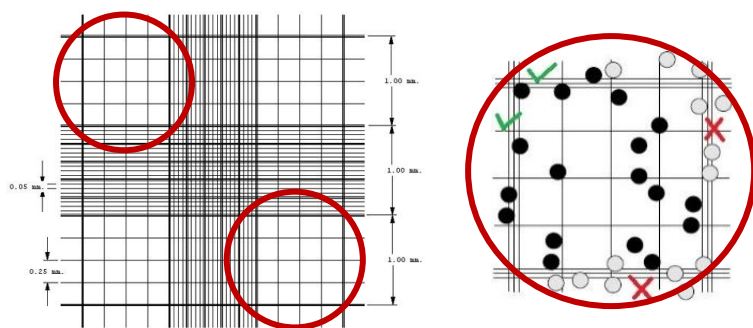
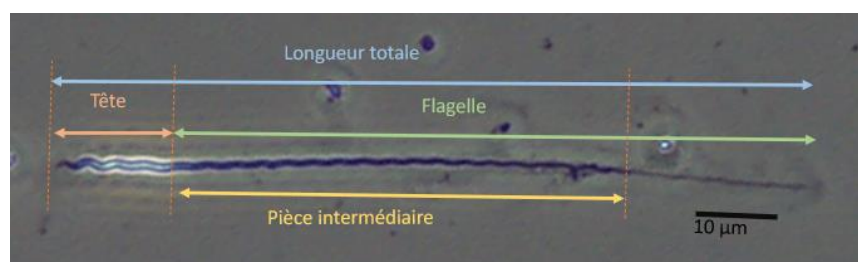


Figure 1 : Schémas de la technique de comptage des cellules dans une chambre de Neubauer. Source : laboratoryinfo.com

Morphologie des spermatozoïdes

Peu de temps après le prélèvement de sperme sur chaque individu, une goutte est mélangée avec 5 μL de formaline (10%) puis déposée sur une lame de verre. Cette goutte est ensuite étalée très doucement avec une lamelle puis séchée à l'air libre. Les lames sont conservées à température ambiante jusqu'au laboratoire. Les analyses de morphologie effectuées comprennent des mesures de la longueur totale, la taille de la tête, du flagelle et de la pièce intermédiaire (Figure 2). Pour ce faire, des captures d'écran sont réalisées à partir des

Figure 2 : Spermatozoïde de mésange charbonnière et ses différentes composantes morphologiques.



images obtenues par caméra HD reliée au microscope (x400) en contraste de phase, avec le logiciel Epiphan Capture Tool. Ces photos sont ensuite analysées grâce au logiciel ImageJ, après avoir ajusté l'échelle en mesurant un élément aux dimensions connues (chambre de Neubauer) afin de déterminer la résolution de l'image en pixels/ μm .

ANALYSES STATISTIQUES

Les analyses statistiques sont effectuées sur le logiciel R version 4.0.4. Dans un premier temps, le succès d'éclosion et les paramètres de qualité spermatique sont comparés entre les deux sites. Dans un deuxième temps, l'influence de la densité et de la morphologie des spermatozoïdes sur le succès d'éclosion est testée. Ce dernier est pondéré par la taille de ponte car pour un même succès d'éclosion, l'investissement n'est pas forcément le même pour 2 mâles. Pour l'ensemble de ces tests le seuil de significativité est fixé au seuil $\alpha=0,05$. Les dates sont exprimées en jour julien à partir du 1^{er} mars 2021.

Certaines covariables qui peuvent influencer les résultats sont prises en compte dans tous les modèles : la date d'éclosion et l'âge des mâles. Premièrement, la date d'éclosion permet de prendre en compte l'avancée de la saison qui est un paramètre connu pour influencer le succès reproducteur (Wawrzyniak et al. 2015). Deuxièmement, l'âge des mâles peut impacter négativement leur fertilité (Preston et al. 2015). D'après un test exact de Fisher, il y a une plus grande proportion de mâles âgés de plus de 2 ans en ville par rapport à la forêt ($p\text{-value} = 0.029$). L'âge est donc pris en compte dans tous les modèles, sauf pour la comparaison du succès d'éclosion entre ville et forêt étant donné que l'âge n'est pas connu pour tous les nichoirs, ce qui aurait considérablement réduit les effectifs. La variable « site » est également ajoutée en covariable dans les modèles qui testent le lien entre le succès d'éclosion et les paramètres des spermatozoïdes, afin de prendre en compte les différences d'habitat.

Les conditions d'applications sont vérifiées pour chaque modèle, par des représentations graphiques de la normalité et de l'homoscédasticité des résidus pour les modèles linéaires gaussiens, ou une vérification de la surdispersion (déviance/degré de liberté des résidus) pour les lois binomiales. Si la surdispersion est supérieure à 1.5, une loi quasi binomiale est utilisée lorsque cela est possible. Enfin, des tests de Wald pour les lois binomiales et des tests F de type II pour les lois normales sont réalisés sur les résidus. Même si le nombre de mâles sur lesquels le sperme a pu être récolté est faible (voir plus bas), des tests paramétriques plutôt que non paramétriques sont choisis afin de pouvoir intégrer des facteurs aléatoires dans les modèles, ainsi que des covariables permettant de corriger la variance des paramètres testés.

Succès d'éclosion ville/forêt

Il a été possible de calculer le succès d'éclosion pour 26 nichoirs en centre-ville et 36 à la Wantzenau, qui sont les nichoirs pour lesquels au moins 1 poussin a éclos. Ainsi, les abandons de ponte sont retirés des données pour ne pas biaiser les résultats du taux d'éclosion, car il serait alors impossible de distinguer les œufs non éclos pour cause d'abandon de ceux non fécondés ou encore de ceux avec une mortalité embryonnaire. Un modèle linéaire généralisé (GLM) en loi quasi binomiale est utilisé pour tester l'effet du site et des covariables, car les données sont des ratios compris entre 0 (échec) et 1 (succès total).

Paramètres de qualité spermatique ville/forêt

Pour des raisons techniques, le prélèvement d'échantillons de sperme a été possible sur 9 mâles en ville et 9 en forêt. Afin de comparer les paramètres de qualité spermatique entre les deux sites, des modèles linéaires mixtes sont utilisés, en mettant l'expérimentateur en facteur aléatoire. Cela permet de limiter le biais provoqué par les différences de mesures et de comptages d'un expérimentateur à l'autre, bien que des tests de concordance soient effectués, en calculant le coefficient de variation des résultats obtenus par les deux expérimentateurs sur les mêmes échantillons. Pour la densité, des échantillons exploitables n'ont pu être obtenus que pour 6 individus en ville et 7 à la Wantzenau. Le nombre de spermatozoïdes est transformé de manière logarithmique pour que les résidus soient normaux et homoscedastiques.

Les mesures de morphologie ont été réalisées sur 10 spermatozoïdes entiers et normaux par individu, sauf pour un mâle pour lequel seuls 6 spermatozoïdes ont été trouvés. En tout, la taille d'échantillonnage est donc de 90 observations pour la ville et 86 pour la forêt. Des modèles linéaires mixtes sont effectués pour chaque élément des spermatozoïdes mesurés, à savoir la longueur totale, la tête, le flagelle et la pièce intermédiaire. Une analyse des ratios entre tête, flagelle et pièce intermédiaire est également effectuée de la même manière. L'individu est mis en facteur aléatoire étant donné les mesures répétées. Lorsque le résultat est significatif, un test de comparaison de Tukey est ensuite réalisé.

Qualité spermatique et succès d'éclosion

Afin de tester l'effet de la qualité spermatique sur le succès d'éclosion, des modèles linéaires mixtes généralisés à loi binomiale (fonction `glmer`, package `lme4`) sont utilisés. Pour la densité, le facteur aléatoire est l'expérimentateur et pour la morphologie, c'est l'individu. Le nombre de spermatozoïdes est transformé de manière logarithmique. Une loi binomiale est utilisée pour les deux paramètres de qualité spermatique, bien que la surdispersion des données soit trop élevée pour la densité, cependant l'utilisation d'une loi quasi binomiale est impossible

sur la fonction utilisée. Le risque de ne pas prendre en compte la surdispersion serait de sous-estimer la p-value ; or, nos résultats ne montrant pas de différence significative, il n'est alors pas dérangeant d'utiliser une loi binomiale. Pour la morphologie, les quatre paramètres sont mis dans le modèle pour tester l'effet de chacun d'eux sur le succès d'éclosion. Après test de la multi colinéarité (variance inflation factor), la longueur totale étant très corrélée à la longueur du flagelle, elle est retirée du modèle pour éviter cette multi colinéarité.

RESULTATS

1. Succès d'éclosion

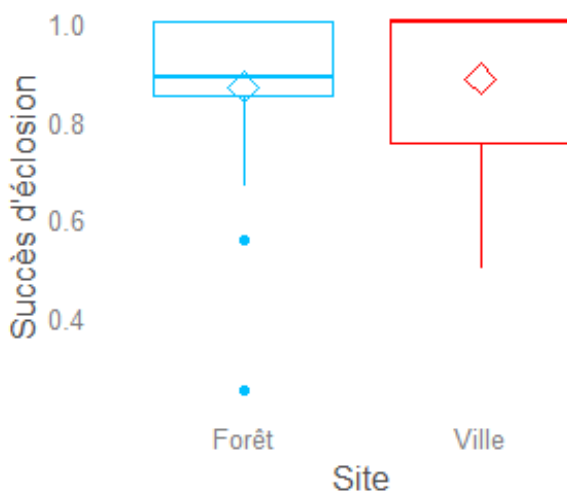


Figure 4 : *Succès d'éclosion en fonction du site.*

Le succès d'éclosion n'est pas significativement différent d'un site à l'autre ($F = 0.11$, $p = 0.75$, Fig. 3). La date d'éclosion n'a aucun effet sur le succès ($F = 0.25$, $p = 0.62$). Les résultats complets du modèle linéaire généralisé sont présentés dans le tableau 2 en annexe. Les moyennes du succès d'éclosion ainsi que d'autres paramètres de reproduction sont présentées dans le tableau 1 en annexe.

2. Qualité spermatique

Densité spermatique

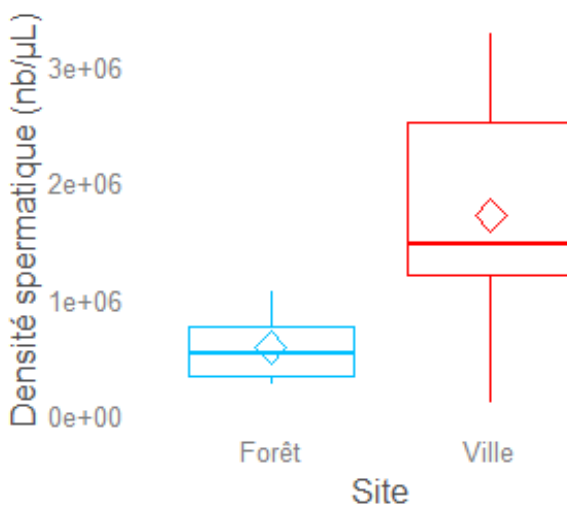


Figure 6 : *Densité spermatique en fonction du site.*

Le nombre de spermatozoïdes n'est pas significativement différent entre la ville et la forêt ($F = 0.67$, $p = 0.44$, Fig. 4). La date d'éclosion ($F = 1.07$, $p = 0.33$) et l'âge des mâles ($F = 2.78$, $p = 0.13$) n'influent pas non plus sur la densité spermatique. Les résultats complets du modèle linéaire mixte sont présentés dans le tableau 4 en annexe. Les moyennes de densité spermatique sont présentées dans le tableau 3 en annexe.

Morphologie des spermatozoïdes

Parmi les quatre paramètres morphologiques des spermatozoïdes mesurés (Fig. 5), seule la longueur de la tête est significativement différente d'un site à l'autre ($F = 7.77$, $p = 0.01$, Fig. 5C), en étant plus petite en centre-ville (post hoc : $F = 2.46$, $p = 0.03$). Les autres paramètres n'ont montré aucune différence ($F < 0.83$, $p > 0.38$). En ce qui concerne les ratios entre les différents éléments composant les gamètes, aucune différence n'a été trouvée entre sites ($F < 2.37$, $p > 0.15$, Fig. 6). Enfin, l'âge ($F < 1.94$, $p > 0.19$) ainsi que la date d'éclosion ($F < 3.20$, $p > 0.10$) n'ont eu aucun effet sur chacun de ces 7 paramètres testés. Les résultats complets des modèles linéaires mixtes sont présentés dans le tableau 4 en annexe.

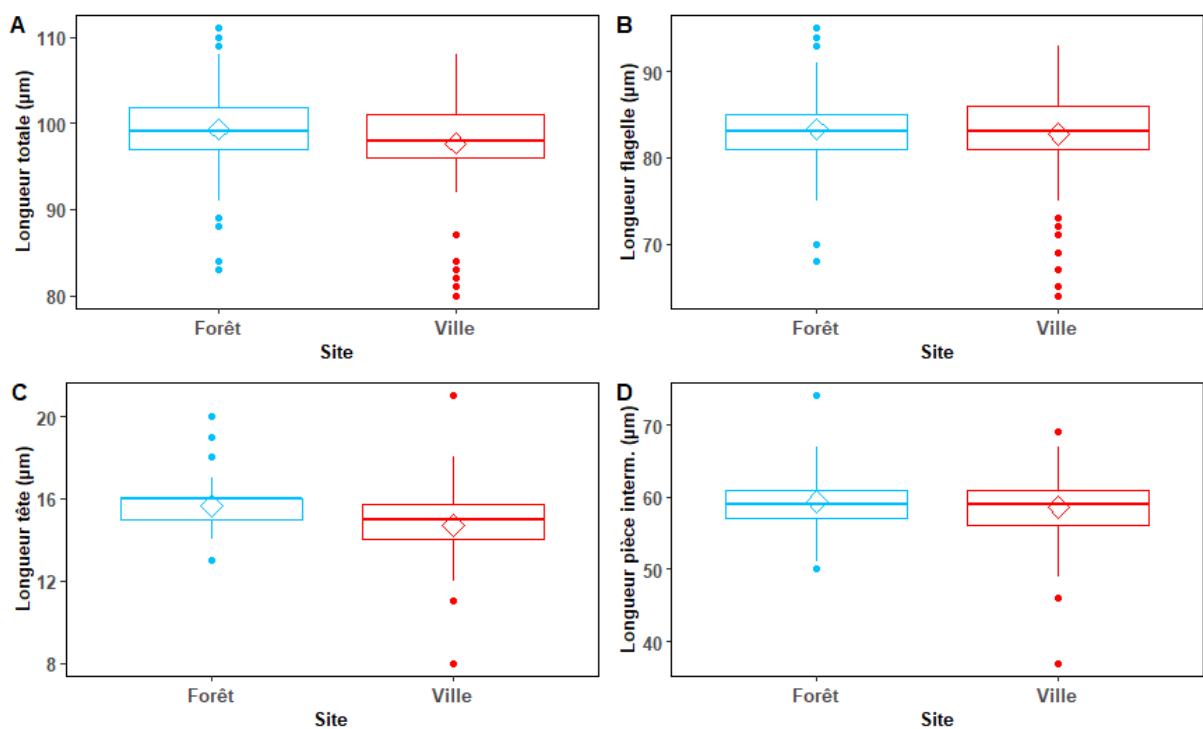


Figure 5 : Paramètres morphologiques des spermatozoïdes en fonction du site. Les valeurs moyennes sont présentées dans le tableau 3 en annexe.

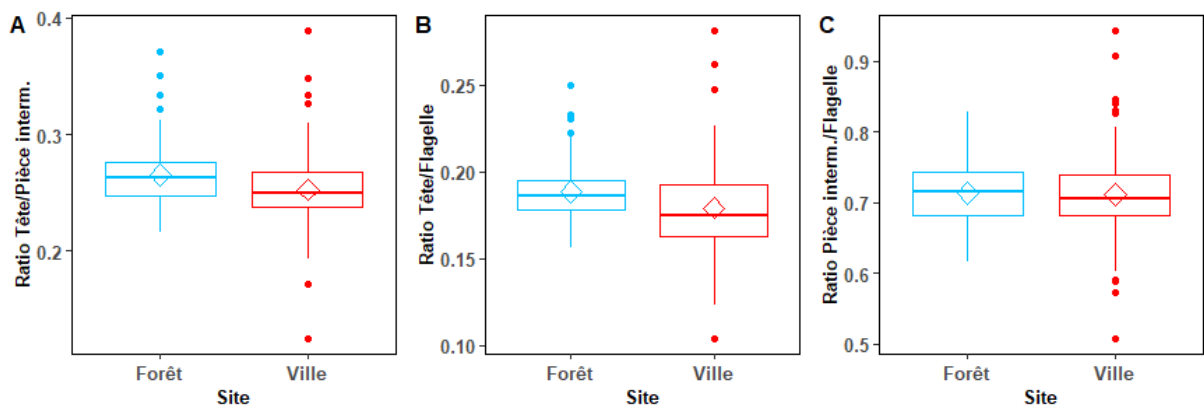


Figure 6 : Ratios entre paramètres morphologiques des spermatozoïdes en fonction du site. Les valeurs moyennes sont présentées dans le tableau 3 en annexe.

3. Qualité spermatique et succès d'éclosion

Aucune corrélation n'est trouvée entre la densité des spermatozoïdes et le succès d'éclosion ($F = 0.80, p = 0.37$). Pareillement, le succès d'éclosion n'est influencé par aucun des paramètres morphologiques mesurés ($F < 0.04, p > 0.85$). Les résultats complets des modèles linéaires mixtes généralisés sont présentés dans le tableau 5 en annexe.

DISCUSSION

Le but de cette étude était de tester si l'urbanisation pouvait avoir un impact sur la qualité spermatique des mésanges charbonnières. Aucune différence entre site n'a été trouvée pour le succès d'éclosion sur l'année 2021 ni pour la densité spermatique. En revanche, en ce qui concerne la morphologie des spermatozoïdes, la taille de la tête s'est avérée être plus petite en ville. La longueur totale, le flagelle et la pièce intermédiaire ne sont pas différents d'un site à l'autre, tout comme les ratios entre les 3 parties composant le spermatozoïde. Aucune corrélation n'a été trouvée entre les paramètres de qualité spermatique et le succès d'éclosion. Enfin, l'âge des mâles et la date d'éclosion n'ont eu aucun effet sur chacune des relations testées.

1. Succès d'éclosion

Le succès d'éclosion est un bon indicateur des performances reproductives chez les oiseaux (J. Wawrzyniak et al. 2020). Les résultats de cette année 2021 montrent qu'il n'est pas différent en ville par rapport à la forêt, contrairement à nos prédictions. En effet, le suivi des mésanges les années précédentes montrait un succès d'éclosion en moyenne plus faible en ville qu'en forêt (Saulnier et al., en préparation). De la même manière, une étude menée sur *P. major* en de 2002 à 2015 a montré des résultats similaires entre milieu urbain et non urbain (J. Wawrzyniak et al. 2020). Cependant, bien que le succès d'éclosion en forêt soit en moyenne meilleur sur plusieurs années, il n'est pas rare d'observer une absence de différence entre habitat urbain et forestier comme cela a été le cas en 2018 à Strasbourg (Saulnier et al., en préparation), et même sur plusieurs années à Łódź en Pologne (J. Wawrzyniak et al. 2020).

Le nombre d'œufs éclos peut dépendre des conditions environnementales, notamment la température et l'humidité (J. Wawrzyniak et al. 2020). Il s'avère que le mois d'avril a été particulièrement froid et sec, et le mois de mai plutôt froid et pluvieux par rapport aux moyennes mensuelles (previsions-meteo.ch 2021). Il ne serait donc pas improbable que ces conditions climatiques printanières aient joué un rôle dans l'observation de ces résultats, bien que les taux

d'éclosion (89% en ville et 85% en forêt, voir tableau 1 en annexe) se situent dans la moyenne pour cette espèce (J. Wawrzyniak et al. 2020).

Le succès d'éclosion n'est pas affecté par la date d'éclosion dans notre étude. Bien que cela n'ait pas été possible du fait de l'absence de certaines données pour plusieurs nids, il aurait été plus judicieux de tester l'effet de la date de ponte. En effet, les mésanges ne commencent pas toutes à incuber au même moment, ce qui leur permet d'ajuster la date d'éclosion en fonction des conditions environnementales (Álvarez et Barba 2014). Cette capacité à moduler le délai entre le début de la ponte et l'éclosion pourrait expliquer pourquoi le succès d'éclosion ne serait pas affecté par la date d'éclosion. Les mésanges qui auraient copulé et donc pondu plus tôt malgré de mauvaises conditions climatiques auraient été capables d'assurer tout de même un bon succès reproducteur. Des résultats similaires ont pu être observés sur une population de mésanges charbonnières en Espagne (Monros, Belda, et Barba 1998).

2. Densité spermatique

La densité spermatique est un des paramètres utilisés pour définir la qualité de l'éjaculat (Humann-Guillemot et al. 2019). Notre hypothèse était que l'urbanisation pouvait causer une diminution du succès reproducteur via une réduction de la densité spermatique. Cependant, nos résultats ne montrent pas de différence significative de la densité spermatique entre la ville et la forêt, et une tendance inverse est même observée, avec plus de spermatozoïdes en ville, bien qu'elle soit non significative. Tout d'abord, des densités significativement différentes auraient pu être observées entre sites avec des effectifs d'échantillonnage plus conséquents.

Ensuite, il se pourrait que les oiseaux des villes aient une meilleure protection antioxydante. Des études menées sur des moineaux friquets *Passer montanus* ont montré des oiseaux mieux protégés du stress oxydant sur un site pollué aux métaux lourds, (Yang, Zhang, Wang, Zhang, et al. 2020), et également le long d'un gradient d'urbanisation (Salmón et al. 2018). De plus, les merles noirs *Turdus merula* urbains ont montré moins de dommages oxydatifs face à des conditions de stress induites en laboratoire que leurs congénères ruraux (Costantini et al. 2014). Ces résultats suggèrent donc que les individus des villes ne sont pas forcément en moins bonnes conditions que ceux de la forêt. Les espèces seraient capables de répondre aux changements environnementaux rapides tels que l'urbanisation, soit de manière micro évolutive, soit grâce à une grande plasticité phénotypique (Charmantier et al. 2008), leur permettant des changements d'allocation des ressources (comme par exemple les défenses antioxydantes) pour faire face aux pressions environnementales. Mais il se pourrait également que seuls les individus de bonne qualité pourraient se reproduire en ville, ce qui suggérerait un

rôle de filtre joué par la ville (Crocì, Butet, et Clergeau 2008). Il serait intéressant de faire des mesures de stress oxydant, en dosant les concentrations de marqueurs biologiques, ainsi que des mesures de niveaux d'antioxydants dans le plasma et le sperme des mâles capturés dans notre étude afin de tester cette hypothèse.

3. Morphologie des spermatozoïdes

La morphologie des spermatozoïdes est souvent intégrée dans les études de qualité spermatique, car elle semble corrélée à leurs performances, à savoir leur vitesse ou leur longévité (Losdat et Helfenstein 2018). Nos résultats montrent que les spermatozoïdes des mâles en ville ont une tête plus petite. Chez le moineau friquet *Passer montanus*, il a été trouvé que les spermatozoïdes avec une tête plus petite seraient plus véloces (Yang, Zhang, Wang, Yang, et al. 2020). Selon cette hypothèse, les oiseaux des villes auraient donc des spermatozoïdes plus rapides. D'après la littérature, le meilleur prédicteur de la vélocité semble tout de même être le ratio tête/flagelle plutôt que seulement la tête, en tout cas chez le moineau domestique. En effet, les spermatozoïdes avec un grand flagelle par rapport à la tête auraient un meilleur hydrodynamisme et une meilleure propulsion (Helfenstein, Podevin, et Richner 2010).

Néanmoins, les ratios tête/flagelle et tête/pièce intermédiaire ne sont pas significativement différents dans notre étude. Cela peut s'expliquer par le fait que la tête est proportionnellement assez petite par rapport aux autres éléments, notamment le flagelle qui représente une grosse part de la longueur totale et donc de la valeur du ratio (Losdat et Helfenstein 2018). Si nous avions pu obtenir la mobilité des spermatozoïdes après le prélèvement, nous aurions pu tester si ce ratio était également un bon prédicteur des performances des spermatozoïdes chez la mésange charbonnière. Enfin, il aurait également été intéressant de tester la proportion de spermatozoïdes anormaux, étant donné que chez *P. montanus*, elle a été trouvée comme étant plus faible dans la zone polluée aux métaux lourds (Yang, Zhang, Wang, Yang, et al. 2020).

4. Qualité spermatique et succès d'éclosion

Le but global de notre étude était de tester si les différences de succès d'éclosion observées entre les deux sites pouvaient être dues à des différences de qualité spermatique entre les mâles. On s'attendait à ce que les paramètres de qualité spermatique soient corrélés au succès d'éclosion. Mais aucun résultat significatif n'a été trouvé, ce qui va à l'encontre de nos prédictions. La taille de la tête, qui a pourtant été trouvée plus petite en ville, n'est pas non plus corrélée au succès d'éclosion. Mais pour approfondir nos hypothèses, il faudrait coupler ces analyses morphologiques à des analyses fonctionnelles de mobilité et de longévité.

Cependant, nos résultats n'excluent pas totalement l'hypothèse de la qualité spermatique pour expliquer les différences de succès d'éclosion observées les années précédentes. En effet, le succès d'éclosion est celui du couple social mais, la mésange charbonnière étant régulièrement engagée dans des copulations hors couple, rien ne prouve que le mâle capturé au nichoir soit le père biologique. Pour être sûr de la paternité du mâle capturé, il faudrait pour cela réaliser des tests génétiques par exemple grâce à des mesures de microsatellites, d'autant plus que la fréquence des copulations hors-couple chez la mésange charbonnière diffère en fonction des sites, en étant plus élevée en ville (Pipoly et al. 2019).

De plus, ce n'est pas seulement le mâle qui détermine l'issue de la compétition spermatique, car le stockage des spermatozoïdes par la femelle a aussi un impact sur le succès de fécondation du mâle (Helfenstein, Podelvin, et Richner 2010). C'est pourquoi, l'hypothèse proposée par Helfenstein, Podelvin, et Richner 2010 serait que les mâles produisent des spermatozoïdes de tailles très variables afin de maximiser leurs chances de fécondation, car les plus grands seraient les plus véloces mais les plus petits seraient ceux qui vivent le plus longtemps. Il aurait donc été intéressant de tester la variabilité intra-individuelle dans la morphologie des spermatozoïdes chez la mésange charbonnière sur chacun de sites, en plus de tenter de corrélérer morphologie, performances et succès d'éclosion.

Enfin, le succès d'éclosion peut aussi être déterminé par l'apport d'éléments essentiels à l'œuf par la femelle (Isaksson, Johansson, et Andersson 2008 ; Toledo et al. 2016 ; Møller, Karadas, et Mousseau 2008). De plus, on ne peut pas savoir si un œuf n'a pas éclos parce qu'il n'était pas fécondé ou à cause d'une mort embryonnaire précoce, à moins de récupérer tous les œufs non éclos dans les nids et effectuer des analyses sous microscope (Birkhead, Veiga, et Fletcher 1995).

Pour conclure, l'absence de différence de succès d'éclosion observée cette année pourrait être expliquée par le peu de différences trouvées en termes de qualité spermatique entre ville et forêt. Il serait intéressant de réitérer l'expérience sur une année où le succès d'éclosion serait différent entre sites. De plus, tester le potentiel lien existant entre la morphologie des spermatozoïdes et leurs performances, ainsi que corrélérer cela au succès d'éclosion permettrait peut-être d'apporter des éléments de discussion supplémentaires. Enfin, il pourrait également être pertinent de tester d'autres paramètres intrinsèquement liés à la fertilité comme le stress oxydatif dans le sperme, les niveaux d'antioxydants ou encore les hormones, et qui pourraient expliquer les différences de succès reproducteur observées les années précédentes.

Bibliographie

- Álvarez, Elena, et Emilio Barba. 2014. « Incubation and Hatching Periods in a Mediterranean Great Tit *Parus Major* Population ». *Bird Study* 61 (2): 152-61.
<https://doi.org/10.1080/00063657.2014.908819>.
- Aronson, Myla F. J., Frank A. La Sorte, Charles H. Nilon, Madhusudan Katti, Mark A. Goddard, Christopher A. Lepczyk, Paige S. Warren, et al. 2014. « A global analysis of the impacts of urbanization on bird and plant diversity reveals key anthropogenic drivers ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281 (1780): 20133330. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.3330>.
- Bailly, Juliette, Renaud Scheifler, Sarah Berthe, Valérie-Anne Clément-Demange, Matthieu Leblond, Baptiste Pasteur, et Bruno Faivre. 2016. « From Eggs to Fledging: Negative Impact of Urban Habitat on Reproduction in Two Tit Species ». *Journal of Ornithology* 157 (2): 377-92. <https://doi.org/10.1007/s10336-015-1293-3>.
- Birkhead, T. R., J. P. Veiga, et F. Fletcher. 1995. « Sperm Competition and Unhatched Eggs in the House Sparrow ». *Journal of Avian Biology* 26 (4): 343-45.
<https://doi.org/10.2307/3677051>.
- Blakey, Jeremy K. 1994. « Genetic Evidence for Extra-Pair Fertilizations in a Monogamous Passerine, the Great Tit *Parus Major* ». *Ibis* 136 (4): 457-62.
<https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.1994.tb01122.x>.
- Brun, Jorg, Jorg Epplen, Sabine Strohbach, Thomas Lubjuhn, et Thomas Gerken. 1999. « Extra-pair paternity in great tits (*Parus major*)-a long term study ». *Behaviour* 136 (9): 1157-72. <https://doi.org/10.1163/156853999501810>.
- Chamberlain, D. E., A. R. Cannon, M. P. Toms, D. I. Leech, B. J. Hatchwell, et K. J. Gaston. 2009. « Avian Productivity in Urban Landscapes: A Review and Meta-Analysis ». *Ibis* 151 (1): 1-18. <https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.2008.00899.x>.
- Charmantier, Anne, Robin H. McCleery, Lionel R. Cole, Chris Perrins, Loeske E. B. Kruuk, et Ben C. Sheldon. 2008. « Adaptive Phenotypic Plasticity in Response to Climate Change in a Wild Bird Population ». *Science* 320 (5877): 800-803.
<https://doi.org/10.1126/science.1157174>.
- Costantini, David, Timothy J. Greives, Michaela Hau, et Jesko Partecke. 2014. « Does urban life change blood oxidative status in birds? » *Journal of Experimental Biology* 217 (17): 2994-97. <https://doi.org/10.1242/jeb.106450>.
- Cramer, Emily R. A., Terje Laskemoen, Even Stensrud, Melissah Rowe, Fredrik Haas, Jan T. Lifjeld, Glenn-Peter Sætre, et Arild Johnsen. 2015. « Morphology-Function Relationships and Repeatability in the Sperm of Passer Sparrows ». *Journal of Morphology* 276 (4): 370-77. <https://doi.org/10.1002/jmor.20346>.
- Croci, Solène, Alain Butet, et Philippe Clergeau. 2008. « Does Urbanization Filter Birds on the Basis of Their Biological Traits ». *The Condor* 110 (2): 223-40.
<https://doi.org/10.1525/cond.2008.8409>.
- Cucchi, Thomas, Nicolas Lescureux, Anthony Herrel, Aline Averbouh, Jean-Renaud Boissérie, Marie Balasse, Philippe Bearez, et al. 2017. « Vers une histoire animale des humains ? Les interactions humains-animaux dans le registre paléontologique et archéologique », 8.
- Dauwe, T, E Janssens, B Kempnaers, et M Eens. 2004. « The Effect of Heavy Metal Exposure on Egg Size, Eggshell Thickness and the Number of Spermatozoa in Blue Tit *Parus Caeruleus* Eggs ». *Environmental Pollution* 129 (1): 125-29.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.09.028>.
- Devictor, Vincent, Romain Julliard, et Frédéric Jiguet. 2008. « Distribution of Specialist and Generalist Species along Spatial Gradients of Habitat Disturbance and

- Fragmentation ». *Oikos* 117 (4): 507-14. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2008.16215.x>.
- Géroutet. 1963. *Les Passereaux II : des mésanges aux fauvettes*. Delachaux et Niestlé.
- Helfenstein, Fabrice, Murielle Podevin, et Heinz Richner. 2010. « Sperm Morphology, Swimming Velocity, and Longevity in the House Sparrow *Passer Domesticus* ». *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64 (4): 557-65. <https://doi.org/10.1007/s00265-009-0871-x>.
- Humann-Guilleminot, S., C. Tassin de Montaigu, J. Sire, S. Grünig, O. Gning, G. Glauser, A. Vallat, et F. Helfenstein. 2019. « A Sublethal Dose of the Neonicotinoid Insecticide Acetamiprid Reduces Sperm Density in a Songbird. » *Environmental Research* 177 (octobre): 108589. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108589>.
- Isaksson, Caroline. 2015. « Urbanization, Oxidative Stress and Inflammation: A Question of Evolving, Acclimatizing or Coping with Urban Environmental Stress ». *Functional Ecology* 29 (7): 913-23. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12477>.
- . 2018. « Impact of Urbanization on Birds ». In *Bird Species - How they arise, modify and vanish*, 235-52.
- Isaksson, Caroline, Anette Johansson, et Staffan Andersson. 2008. « Egg Yolk Carotenoids in Relation to Habitat and Reproductive Investment in the Great Tit *Parus major* ». *Physiological and Biochemical Zoology* 81 (1): 112-18. <https://doi.org/10.1086/522650>.
- Kempnaers, Bart, Pernilla Borgström, Peter Loës, Emmi Schlicht, et Mihai Valcu. 2010. « Artificial Night Lighting Affects Dawn Song, Extra-Pair Siring Success, and Lay Date in Songbirds ». *Current Biology* 20 (19): 1735-39. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.08.028>.
- Losdat, Sylvain, et Fabrice Helfenstein. 2018. « Relationships between Sperm Morphological Traits and Sperm Swimming Performance in Wild Great Tits (*Parus Major*) ». *Journal of Ornithology* 159 (3): 805-14. <https://doi.org/10.1007/s10336-018-1539-y>.
- Lüpold, Stefan, Sara Calhim, Simone Immler, et Tim R Birkhead. 2009. « Sperm morphology and sperm velocity in passerine birds ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276 (1659): 1175-81. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1645>.
- Marzluff, John M., Reed Bowman, et Roarke Donnelly. 2001. « A Historical Perspective on Urban Bird Research: Trends, Terms, and Approaches ». In *Avian Ecology and Conservation in an Urbanizing World*, édité par John M. Marzluff, Reed Bowman, et Roarke Donnelly, 1-17. Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1531-9_1.
- McKinney, Michael L. 2002. « Urbanization, Biodiversity, and Conservation: The impacts of urbanization on native species are poorly studied, but educating a highly urbanized human population about these impacts can greatly improve species conservation in all ecosystems ». *BioScience* 52 (10): 883-90. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2002\)052\[0883:UBAC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2002)052[0883:UBAC]2.0.CO;2).
- . 2006. « Urbanization as a Major Cause of Biotic Homogenization ». *Biological Conservation*, Urbanization, 127 (3): 247-60. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.09.005>.
- Møller, Anders Pape, Filis Karadas, et Timothy A. Mousseau. 2008. « Antioxidants in Eggs of Great Tits *Parus Major* from Chernobyl and Hatching Success ». *Journal of Comparative Physiology B* 178 (6): 735-43. <https://doi.org/10.1007/s00360-008-0262-z>.
- Monros, Juan S, Eduardo J Belda, et Emilio Barba. 1998. « Delays of the hatching dates in great tits *Parus major*: effects on breeding performance », 8.

- Oiseaux.net. 2017. « Mésange charbonnière - *Parus major* - Great Tit ». 2017.
<https://www.oiseaux.net/oiseaux/mesange.charbonniere.html>.
- Phillimore, Albert B., David I. Leech, James W. Pearce-Higgins, et Jarrod D. Hadfield. 2016.
« Passerines May Be Sufficiently Plastic to Track Temperature-Mediated Shifts in
Optimum Lay Date ». *Global Change Biology* 22 (10): 3259-72.
<https://doi.org/10.1111/gcb.13302>.
- Pipoly, Ivett, Krisztián Szabó, Veronika Bókony, Bálint Preiszner, Gábor Seress, Erno
Vincze, Julia Schroeder, et András Liker. 2019. « Higher Frequency of Extra-Pair
Offspring in Urban Than Forest Broods of Great Tits (*Parus Major*) ». *Frontiers in
Ecology and Evolution* 7. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00229>.
- Pizzari, Tommaso, et Geoff A. Parker. 2009. « 6 - Sperm Competition and Sperm
Phenotype ». In *Sperm Biology*, édité par Tim R. Birkhead, David J. Hosken, et Scott
Pitnick, 207-45. London: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372568-4.00006-9>.
- Prinzinger, R, A Preßmar, et E Schleucher. 1991. « Body Temperature in Birds ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 99 (4): 499-506.
[https://doi.org/10.1016/0300-9629\(91\)90122-S](https://doi.org/10.1016/0300-9629(91)90122-S).
- « Relevés mensuels de Strasbourg pour l'année 2021 ». 2021. [previsions-meteo.ch](https://prevision-meteo.ch). 2021.
<https://prevision-meteo.ch/climat/mensuel/strasbourg/2021>.
- Rojas Mora, Alfonso, Alexandra Firth, Sophie Blareau, Armelle Vallat, et Fabrice
Helfenstein. 2017. « Oxidative Stress Affects Sperm Performance and Ejaculate
Redox Status in Subordinate House Sparrows ». *Journal of Experimental Biology*,
janvier, jeb.154799. <https://doi.org/10.1242/jeb.154799>.
- Salmón, Pablo, Emilie Stroh, Amparo Herrera-Dueñas, Maria von Post, et Caroline Isaksson.
2018. « Oxidative Stress in Birds along a NOx and Urbanisation Gradient: An
Interspecific Approach ». *Science of The Total Environment* 622-623 (mai): 635-43.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.354>.
- Satgé, Jacques de, Diederik Strubbe, Joris Elst, Jenny De Laet, Frank Adriaensen, et Erik
Matthysen. 2019. « Urbanisation Lowers Great Tit *Parus Major* Breeding Success at
Multiple Spatial Scales ». *Journal of Avian Biology* 50 (11).
<https://doi.org/10.1111/jav.02108>.
- Sepp, Tuul, Kevin J. McGraw, Ants Kaasik, et Mathieu Giraudeau. 2018. « A Review of
Urban Impacts on Avian Life-History Evolution: Does City Living Lead to Slower
Pace of Life? ». *Global Change Biology* 24 (4): 1452-69.
<https://doi.org/10.1111/gcb.13969>.
- Shao, Y. Z., H. J. Zhao, Y Wang, J. J. Liu, J. L. Li, L. Y. Luo, et M. W. Xing. 2018. « The
Apoptosis in Arsenic-Induced Oxidative Stress Is Associated with Autophagy in the
Testis Tissues of Chicken ». *Poultry Science* 97 (9): 3248-57.
<https://doi.org/10.3382/ps/pey156>.
- Snook, Rhonda R. 2005. « Sperm in Competition: Not Playing by the Numbers ». *Trends in
Ecology & Evolution* 20 (1): 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.10.011>.
- Svensson, L., K. Mullarney, et D. Zetterström. 2020. *Le guide ornitho*. Delachaux et Niestlé.
- Toledo, Alejandra, Martin N. Andersson, Hong-Lei Wang, Pablo Salmón, Hannah Watson,
Graham C. Burdge, et Caroline Isaksson. 2016. « Fatty Acid Profiles of Great Tit
(*Parus Major*) Eggs Differ between Urban and Rural Habitats, but Not between
Coniferous and Deciduous Forests ». *The Science of Nature* 103 (7): 55.
<https://doi.org/10.1007/s00114-016-1381-0>.
- Vallverdú-Coll, Núria, François Mougeot, Manuel E. Ortiz-Santaliestra, Cristina Castaño,
Julián Santiago-Moreno, et Rafael Mateo. 2016. « Effects of Lead Exposure on Sperm

- Quality and Reproductive Success in an Avian Model ». *Environmental Science & Technology* 50 (22): 12484-92. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04231>.
- Wawrzyniak, J., M. Gładalski, A. Kaliński, M. Bańbura, M. Markowski, J. Skwarska, P. Zieliński, et J. Bańbura. 2020. « Differences in the breeding performance of great tits *Parus major* between a forest and an urban area: a long term study on first clutches ». *The European Zoological Journal* 87 (1): 294-309. <https://doi.org/10.1080/24750263.2020.1766125>.
- Wawrzyniak, Jarosław, Adam Kaliński, Michał Gładalski, Mirosława Bańbura, Marcin Markowski, Joanna Skwarska, Piotr Zieliński, Iwona Cyżewska, et Jerzy Bańbura. 2015. « Long-Term Variation in Laying Date and Clutch Size of the Great Tit *Parus major* in Central Poland: A Comparison between Urban Parkland and Deciduous Forest ». *Ardeola* 62 (2): 311-22. <https://doi.org/10.13157/arla.62.2.2015.311>.
- Yang, Ying, Huijie Zhang, Shengnan Wang, Wenzhi Yang, Jian Ding, et Yingmei Zhang. 2020. « Variation in Sperm Morphology and Performance in Tree Sparrow (*Passer Montanus*) under Long-Term Environmental Heavy Metal Pollution ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 197 (juillet): 110622. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110622>.
- Yang, Ying, Wenya Zhang, Shengnan Wang, Huijie Zhang, et Yingmei Zhang. 2020. « Response of Male Reproductive Function to Environmental Heavy Metal Pollution in a Free-Living Passerine Bird, *Passer Montanus* ». *Science of The Total Environment* 747 (décembre): 141402. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141402>.

Annexes



Figure 1 : Vue satellite des sites sur lesquels sont installés les nichoirs à mésanges. En bleu, la forêt de la Wantzenau. En rouge, le centre-ville de Strasbourg et ses différents sous-sites. Heyritz, Citadelle et Université sont des parcs, tandis que les autres sont des avenues ou des rues bordées d'arbres.

Tableau 1 : Suivi des nichoirs et des paramètres de reproduction des mésanges charbonnières *Parus major*. Les dates de ponte et d'éclosion sont exprimées en jour julien à partir du 1^{er} mars 2021.

Site	Ville			Forêt		
	n	ntot	%	n	ntot	%
Nichoirs occupés par <i>Parus major</i>	31	133	23.31	39	90	43.33
Abandon avant éclosion	3	31	9.68	0	39	0.00
Abandon après éclosion	13	31	41.94	12	39	30.77
Paramètres de reproduction	Mean	SE	N	Mean	SE	N
Date de ponte	37.32	5.00	31	39.75	5.78	20
Taille de ponte	6.65	1.80	26	8.17	1.11	37
Date d'éclosion	58.23	5.40	26	59.71	5.19	35
Nombre de poussins éclos	6.04	1.84	26	7.25	1.63	36
Succès d'éclosion	0.89	0.18	26	0.85	0.21	36

Tableau 2 : Résultats du modèle linéaire généralisé sur le succès d'éclosion. Le site de référence est la ville. DEJJ = date d'éclosion en jour julien.

Effet	Succès d'éclosion				
	Est. ± SE	Wald χ^2	df	P	N
Intercept	3.07 ± 2.26				
Site	0.14 ± 0.43	0.32	57	0.75	62
DEJJ	-0.02 ± 0.04	-0.51	57	0.62	62

Tableau 3 : Moyennes et erreurs standards des paramètres de qualité spermatique selon le site.

Site	Ville			Forêt		
	Mean	SE	N	Mean	SE	N
Densité spermatique (nombre/ μ L)	1710833	476151	6	572143	112589	7
Longueur totale (μ m)	97.64	0.66		99.28	0.56	
Tête (μ m)	14.70	0.18		15.67	0.14	
Flagelle (μ m)	82.74	0.68		83.33	0.51	
Pièce intermédiaire (μ m)	58.62	0.49	86	59.34	0.37	90
Tête/Pièce intermédiaire	0.253	0.004		0.265	0.003	
Tête/Flagelle	0.179	0.003		0.188	0.002	
Pièce intermédiaire/Flagelle	0.711	0.007		0.713	0.005	

Tableau 4 : Résultats des modèles linéaires mixtes sur les différences de paramètres de qualité spermatique selon le site, la date d'éclosion, et l'âge du mâle. Le site de référence est la ville et l'âge de référence est 2 ans. La densité spermatique a été transformée de manière logarithmique.

Densité spermatique					
	Est. \pm SE	T	df	P	N
Intercept	14.60 \pm 1.11				
Site	0.49 \pm 0.60	0.82	8	0.44	13
DEJJ	-0.02 \pm 0.02	-1.03	8	0.33	
Age	-1.07 \pm 0.64	-1.67	8	0.13	
Morphologie des spermatozoïdes					
	Est. \pm SE	T	df	P	N
Longueur totale					
Intercept	104.52 \pm 13.06	8.01			
Site	-0.76 \pm 2.17	-0.35	14	0.73	166
DEJJ	-0.1 \pm 0.2	-0.50	14	0.62	
Age	2.71 \pm 2.20	1.23	14	0.24	
Tête					
Intercept	20.19 \pm 2.49				
Site	-0.99 \pm 0.40	2.46	14	0.03	166
DEJJ	-0.08 \pm 0.04	-1.83	14	0.09	
Age	0.24 \pm 0.41	0.59	14	0.56	
Flagelle					
Intercept	84.66 \pm 12.89				
Site	0.46 \pm 2.14	0.21	14	0.83	166
DEJJ	-0.05 \pm 0.22	-0.22	14	0.83	
Age	2.84 \pm 2.71	1.31	14	0.21	
Pièce intermédiaire					
Intercept	59.03 \pm 8.39				
Site	-0.49 \pm 1.37	-0.36	14	0.73	166
DEJJ	-0,0001 \pm 0.14	-0.0007	14	1.00	
Age	0.40 \pm 1.40	0.29	14	0.78	
Ratio tête/pièce intermédiaire					
Intercept	0.35 \pm 0.07				
Site	-0,01 \pm 0.01	-1.13	14	0.28	166
DEJJ	-0.001 \pm 0.001	-1.23	14	0.24	
Age	0.003 \pm 0.01	0.22	14	0.83	
Ratio pièce intermédiaire/flagelle					
Intercept	0.68 \pm 0.09				
Site	-0.01 \pm 0.01	-0.51	14	0.62	166
DEJJ	0.0007 \pm 0.001	0.51	14	0.62	
Age	-0.02 \pm 0.01	-1.39	14	0.19	
Ratio tête/flagelle					
Intercept	0.23 \pm 0.04				
Site	-0.01 \pm 0.01	-1.69	14	0.11	166
DEJJ	-0.0007 \pm 0.0007	-0.97	14	0.35	
Age	-0.003 \pm 0.007	-0.48	14	0.64	

Tableau 5 : Résultats des modèles linéaires mixtes généralisés sur le succès d'éclosion en fonction des paramètres de qualité spermatique. Le site de références est la ville et l'âge de référence est 2 ans.

		Succès d'éclosion			
		Est. ± SE	Wald χ^2	P	N
Densité spermatique	Intercept	8.03 ± 7.75			
	Log(densité)	-0.47 ± 0.53	-0.89	0.37	
	Site	-0.42 ± 0.91	-0.46	0.64	13
	Age	-0.10 ± 0.94	-0.10	0.92	
	DEJJ	0.008 ± 0.03	0.29	0.77	
		Succès d'éclosion			
		Est. ± SE	Wald χ^2	P	N
Morphologie des spermatozoïdes	Intercept	-0.58 ± 11.49			
	Flagelle	0.004 ± 0.02	0.19	0.85	
	Tête	-0.01 ± 0.07	0.073	0.94	
	Pièce interm.	-0.0007 ± 0.03	-0.03	0.98	166
	Site	-1.27 ± 1.97	-0.64	0.52	
	Age	-1.36 ± 2.02	-0.67	0.50	
	DEJJ	0.09 ± 0.19	0.5	0.62	