





**UQAR**

Université du Québec  
à Rimouski



UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

**AJUSTEMENTS PHÉNOTYPIQUES EN RÉPONSE  
AUX CONTRAINTES ASSOCIÉES À L'HIVER,  
LA MIGRATION ET LA REPRODUCTION CHEZ  
LE PLECTROPHANE DES NEIGES**

THÈSE

PRÉSENTÉE DANS LE CADRE

DU DOCTORAT EN BIOLOGIE EXTENSIONNÉ

DE L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE « PHILOSOPHIAE DOCTOR (PH.D) »

PAR

© **AUDREY LE POGAM**

**AOÛT 2021**





**Composition du jury :**

**Jonathan Verreault, président du jury, Université du Québec à Montréal**

**François Vézina, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski**

**Oliver P. Love, codirecteur de recherche, University of Windsor**

**Dominique Berteaux, examinateur interne, Université du Québec à Rimouski**

**David L. Swanson, examinateur externe, University of South Dakota**

Dépôt initial le 7 mai 2021

Dépôt final le 27 Août 2021







UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI  
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteure, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteure concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteure autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteure à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteure conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont elle possède un exemplaire.



À mes parents,  
À Jean-Pierre Guillaume  
et Katell Pierre,



# REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je tiens à remercier très chaleureusement toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont accompagnée, aidée, encouragée tout au long de cette aventure. Sans vous, je n'aurais probablement pas parcouru tout ce chemin, alors merci.

Plus particulièrement, j'adresse mes plus sincères remerciements à mes deux directeurs de thèse, François Vézina et Oliver Love, vous avez été des superviseurs exceptionnels, je n'aurais pas pu rêver mieux. Dès le début, vous avez cru en moi et en mes capacités à mener ce projet à terme, je vous en suis incroyablement reconnaissante. Merci pour toute la confiance que vous m'avez accordée durant ces 7 années. François, je tenais également à te remercier de m'avoir donné la chance de pouvoir développer avec toi le projet Alert, qui a été une expérience absolument incroyable au cours de laquelle j'ai beaucoup appris, et ce à plusieurs niveaux ! Honnêtement, je n'aurais jamais pensé me rendre là un jour ! Merci aussi, pour toutes les opportunités que tu as mises sur mon chemin au cours de ces 7 années, j'ai appris que sortir de sa zone de confort apporte souvent de belles surprises ! Enfin, un grand merci pour ton écoute attentive, ton enthousiasme et ta grande disponibilité qui ont été d'un grand support tout au long de cette aventure. Oli, je tenais à te remercier pour ton incroyable soutien, ton infinie bienveillance et ton enthousiasme à tous les égards. Merci aussi pour tes nombreux courriels d'encouragement qui m'ont donné la force de continuer cette aventure ! Enfin, merci de m'avoir accueilli à bras ouverts dans ton laboratoire. Côté les gens du GLIER a été une expérience vraiment très enrichissante pour moi !

Je tiens également à remercier les membres de mon jury d'avoir accepté d'évaluer ma thèse. Dr Jonathan Verreault, Dr Dominique Berteaux, Dr David Swanson, merci pour votre retour, vos conseils et vos questions qui m'ont permis d'amener ma réflexion encore plus loin. J'ai vraiment été très honorée que des scientifiques de votre niveau évaluent mon travail.

Bien évidemment, être doctorante, c'est aussi faire partie d'une équipe de recherche. Je remercie donc la Vézina team au grand complet : Emilie P-J., Emilie D., Emily, Fanny, Julie-Camille, Justine, Karine, Kevin, Lyette, Magali, Marie-Pier, Myriam, Ryan, Sarah P. (♥), Sarah S., Thomas. Merci pour tous ces moments d'échanges et de partage, mais aussi pour votre aide et vos conseils avisés. Un merci particulier à Fanny, sans qui je ne serais pas là aujourd'hui. Merci de m'avoir donné l'occasion de venir au Québec. Sache que tu as été un bel exemple pour moi et que je te suis profondément reconnaissante de la chance que tu m'as donnée en me prenant dans ton équipe cet hiver-là. Un grand merci aussi à Magali et Myriam, mes prédécesseuses, pour m'avoir montré le chemin. Vous avez été pour moi de véritables modèles de persévérance. Myriam, je peux maintenant confirmer l'adage sur la tasse que tu m'avais offerte au début de cette aventure : « it may not be easy but it will be worth it » ! Magali, un grand merci pour ta bienveillance et tes conseils de « grande sœur ». Lyette, merci énormément de prendre si soin de nos chers papouts jour après jour. Merci aussi pour tout le temps que tu investis à poursuivre les mesures mensuelles ! Enfin, merci de m'avoir tant épaulée durant toutes ces années. Ryan, merci pour ta bonne humeur, ta joie de vivre, mais aussi pour tes nombreuses relectures de mes textes en anglais. Ça a été un véritable plaisir de travailler avec toi ! Marie-Pier, merci d'avoir été à mes côtés lors du road-trip Windsor-Rimouski le plus incertain de l'histoire. Je suis heureuse de partager avec toi mon admiration pour ces chères petites boules de plumes. Thomas, merci pour ton ouverture d'esprit, ton soutien et toutes les discussions qu'on a eues ensemble, car parce qu'entre thésards et Bretons de souche on se comprend. Enfin, merci Sarah, ma chère voisine de bureau, d'avoir été si présente. Je suis très contente d'avoir pu partager avec toi tous ces moments de vie d'étudiantes graduées !

Parce que ce projet a aussi impliqué plusieurs personnes, je tiens à remercier chaleureusement tous les gens qui m'ont aidé dans la récolte de données. Merci, Gratien et Sylvie de m'avoir donné accès à votre terrain pour capturer les « sélophanes » en plein hiver. Merci, Karine, Magali, Myriam et Fanny, d'avoir commencé à récolter des données sur les oiseaux captifs avant même que je ne débute ce doctorat, elles étaient les toutes premières d'une longue série. Merci, Gabrielle, Justine, Lyette, Kevin et Francis et toute l'équipe des

Hare Force pour avoir contribué à la récolte de données à Alert. Sandra, un merci particulier pour tes conseils et ton soutien dans les dernières phases de mon doctorat, mais aussi pour ton implication dans le projet d'Alert. Merci, Polan, Laurence, Marie-Pier, Alex, Kim, Claire, Josianne et Charles, d'avoir été à mes côtés pour les captures de plectrophanes durant les tempêtes hivernales aux alentours de Rimouski. Merci, Yann, Gabrielle, Sandrine, Sarah, Jolanie, Cécile, Nolwenn, pour votre aide ponctuelle à l'animalerie et aussi à tous les autres étudiant(e)s qui ont contribué à ce projet, mais que je n'ai pas eu l'occasion de croiser. Merci, Claire, de m'avoir aidé dans l'analyse des images d'échographie lorsque je débutais à peine mon doctorat. Enfin, merci, Karine, Jolanie, Gabrielle, Nolwenn, Rachel, d'avoir contribué au projet de dissection, les mains dégoulinantes de gras.

Un grand merci aussi aux personnes de l'UQAR qui m'ont aidé dans ce projet. Merci, Alain Caron pour tes précieux conseils statistiques et ta grande patience. Merci, Danie Massé pour ton support, ton dévouement et ton immense gentillesse. Merci, Jonathan Coudé et Steeven Ouellet, pour votre support logistique et matériel.

Parce qu'Alert ce n'est pas seulement une histoire de terrain, c'est aussi une histoire humaine, merci à toutes les personnes qui ont contribué à la croissance de ce projet. Je tiens à remercier particulièrement François Fournier d'Environnement et Changements Climatiques Canada pour son aide en matière de soutien logistique dans la phase initiale de ce projet. Merci aussi à Chris McRae, pour avoir été l'initiateur de notre entente avec le département de la défense nationale. Merci à Andrew Tam et Nathan Koutroulides, du département de la défense, pour votre incroyable support dans cette aventure. Merci aussi à tout le personnel de la station des forces canadiennes d'Alert pour votre accueil, nous sommes tellement choyés de vous avoir à nos côtés. Kevin Rawlings, un merci particulier pour ton aide si précieuse et ta bonne humeur contagieuse. Merci aussi, François Cayouette, notre chauffeur officiel de BV, pour ton extrême gentillesse ! Merci également à l'équipe du Quarry pour toutes les fantastiques histoires que vous nous rapportez. Merci de nous avoir accueillis si chaleureusement dans votre shack le temps de se réchauffer avec un bon café !

Enfin, merci à tous ceux avec qui j'ai passé des soirées mémorables au bar de la station, ils se reconnaîtront.

Merci à mes ami(e)s qui me soutiennent depuis l'autre côté de l'Atlantique. Même si on ne se voit pas souvent je sais que vous êtes 100% derrière moi ! Alors, un énorme merci ma Milou, Marine, BB, Julia, ma TM, Fanny et Thomas, Janis et Fabien, mon Zhibou, Maëva et tous les autres ! Un merci particulier à Marion d'avoir été mon acolyte durant tant d'années, on formait une belle équipe d'apprenties biologistes à l'époque, regarde où ça nous a menées ! Merci aussi aux amis d'ici : Charlène et Tony, David, Héloïse, Gab, Laurence, Martin, Rachel !

Parce que sans eux, je ne serais pas là, je tiens à remercier du fond du cœur mes parents, qui malgré la distance, m'ont toujours soutenue et encouragée durant toute cette aventure. Papa, Maman, merci de me laisser poursuivre mes rêves même si cela demande quelques concessions. Merci aussi pour toutes les forces et valeurs que vous m'avez transmises jour après jour et qui m'ont permis d'en arriver là aujourd'hui. Vous êtes des parents formidables et je sais la chance que j'ai de vous avoir. En signe de reconnaissance, je vous dédie ma thèse !

Un grand merci aussi à ma sœur pour son soutien sans faille. Ma Grid, t'es vraiment la meilleure, merci d'être toujours là pour moi, avec toute ta bienveillance, tes petites attentions et tes précieux conseils. Merci aussi à mes grands-parents de penser bien fort à moi. Vous êtes incroyables, j'ai très hâte de vous voir ! Merci enfin à ma famille éloignée et ma belle-famille pour votre soutien infailible.

Comment ne pas remercier Charles, mon amoureux, mon compagnon de route, celui qui partage ma vie depuis le début de cette aventure et qui a dû endurer les montagnes russes qu'engendre la vie de doctorante. Merci de m'avoir épaulée et soutenue comme tu l'as fait, je suis vraiment heureuse de t'avoir à mes côtés. Merci pour ta sincérité, ton incroyable patience, ton infinie gentillesse, et surtout ton don pour me faire retrouver le sourire les jours



de grisaille aux travers tes jeux de mots et ton humour, sache que je t'en suis incroyablement reconnaissante !

Enfin, merci à Jean-Pierre Guillaume, mon enseignant de Sciences et Vie de la Terre au collège de m'avoir fait découvrir les sciences avec tant de passion et de dévouement lorsque j'avais seulement une douzaine d'années. Merci aussi Katell Pierre de m'avoir fait tant rêver au travers de tes récits du grand Sud et tes photos toutes plus fabuleuses et incroyables les unes que les autres. Parce que vous êtes tous les 2 à l'origine de ma passion pour les sciences et les régions polaires, je vous dédie cette thèse. En espérant que vous trouviez dans ce travail le fruit de ce que vous avez su faire germer en moi il y a maintenant une vingtaine d'années.

# RÉSUMÉ

Les organismes sont confrontés à de multiples contraintes environnementales auxquelles ils peuvent répondre par des ajustements phénotypiques menant potentiellement à des compromis physiologiques. Contrairement aux espèces vivant uniquement en milieux tempérés, les mécanismes sous-jacents aux ajustements phénotypiques des espèces confrontées au froid la majeure partie de l'année sont encore mal compris. Ma thèse porte sur les ajustements phénotypiques du plectropane des neiges (*Plectrophenax nivalis*), un passereau migrateur qui hiverne en zone tempérée (entre 40° et 60°N) et migre au printemps vers les régions arctiques pour se reproduire. Plus particulièrement, je me suis intéressée aux variations de composition corporelle (masse corporelle, lipidique et maigre, épaisseur des muscles pectoraux), de capacité de transport de l'oxygène (hématocrite) et de performance métabolique (coûts de maintenance physiologiques – BMR et de capacité thermogénique –  $M_{sum}$ ) au cours de l'hiver, de la migration et de la reproduction. Pour cela, j'ai effectué de 2013 à 2019, des mesures (1) sur des individus maintenus captifs en volière extérieure à Rimouski (QC, 48°N), (2) sur des individus capturés sur leur aire d'hivernage à Rimouski et (3) à l'extrême nord de leur aire de reproduction, à Alert au Nunavut (82°N). Dans le **chapitre 1**, j'ai étudié les ajustements phénotypiques hivernaux des plectropanes maintenus captifs en zone tempérée. L'objectif était de déterminer si le patron d'ajustements de cette espèce associée au froid la majeure partie de sa vie se conformait à celui des espèces résidentes aux mêmes latitudes. Les augmentations de masse corporelle et lipidique, d'épaisseur des muscles pectoraux, d'hématocrite et de  $M_{sum}$  observées entre l'été et l'hiver suggèrent que la flexibilité phénotypique des traits associés à l'acclimatation thermique chez les espèces nordiques est comparable à celle des passereaux résidents des zones tempérées et donc que ces ajustements ne sont pas contraints par la vie dans un environnement froid. Toutefois, le déclin de masse maigre et la stabilité du BMR observés au cours de l'hiver suggèrent que les plectropanes peuvent aussi minimiser les coûts énergétiques de la vie en milieux froids. Au **chapitre 2**, j'ai analysé les patrons d'ajustements phénotypiques de plectropanes maintenus captifs au cours des périodes correspondant à la migration et la reproduction et je les ai comparées au phénotype hivernal. L'objectif était de voir si et par quel mécanisme, les traits associés à l'acclimatation au froid hivernal pouvaient être transférés aux stades ultérieurs du cycle annuel. Les résultats montrent que, bien que la masse corporelle, la masse lipidique et le BMR augmentent pour la migration, les traits liés à l'endurance au froid ne changent pas en parallèle puisqu'ils sont déjà élevés à la sortie de l'hiver. Il s'agit de la première démonstration directe que des traits phénotypiques associés à l'acclimatation hivernale peuvent se transférer au phénotype migratoire et même se maintenir en période de reproduction. Au travers du **chapitre 3**, j'ai comparé le phénotype de plectropanes capturés en milieu naturel en hiver à Rimouski et en pré-reproduction à Alert. L'objectif était de déterminer si l'endurance au froid et les traits associés pouvaient se maintenir à un niveau hivernal durant la migration et la pré-reproduction. Les résultats indiquent que malgré un déclin d'épaisseur des muscles et d'hématocrite, l'endurance au froid et les réserves énergétiques étaient maintenues. Ces résultats confirment l'hypothèse selon laquelle les

espèces migratrices spécialistes du froid pourraient maintenir leur endurance au froid à un niveau hivernal jusqu'à la pré-reproduction. Enfin dans le **Chapitre 4**, j'ai examiné l'évolution du phénotype entre la période de pré-reproduction et d'approvisionnement des oisillons à Alert afin de déterminer comment la transition entre les stades de vie sur les aires de reproduction, en interaction avec les conditions thermiques printanières, pouvait influencer l'endurance au froid. Les résultats montrent que les plectrophanes maintiennent une capacité thermogénique élevée tant que les températures demeurent inférieures à 0-2°C, qu'ils se reproduisent activement ou non. Ces observations suggèrent donc que les plectrophanes subissent probablement un double coût physiologique à la fin du printemps, lorsque les activités de reproduction (c.-à-d., production et incubation des œufs) commencent alors que les températures sont encore inférieures à 0-2°C. De manière générale, cette étude démontre que les mécanismes d'acclimatation thermique établis jusqu'à maintenant ne sont pas tous généralisables aux espèces arctiques. Elle constitue donc un point de référence pour de futures recherches comparatives.

**Mots clés :** *Flexibilité phénotypique, Acclimatation au froid, Migration, Taux métabolique de base, Capacité thermogénique maximale, Composition corporelle, Effets reportés, Oiseaux arctiques*

# ABSTRACT

Organisms are confronted with multiple environmental constraints to which they can respond through phenotypic adjustments that can potentially lead to physiological trade-offs. Contrary to species living only in temperate environments, the mechanisms underlying the phenotypic adjustments of species confronted with cold temperatures during most of the year are still poorly understood. My thesis focuses on the phenotypic adjustments of snow bunting's (*Plectrophenax nivalis*), a migratory passerine that winters in temperate zones (between 40° and 60°N) and migrates in spring to Arctic regions to breed. More specifically, I was interested in the variations of body composition (body mass, lipid and lean mass, pectoral muscle thickness), oxygen transport capacity (hematocrit) and metabolic performance (physiological maintenance costs - BMR and thermogenic capacity -  $M_{\text{sum}}$ ) among the winter, migratory and reproductive stages. For this, I conducted measurements from 2013 to 2019 on individuals either (1) held captive in an outdoor aviary in Rimouski (QC, 48°N), (2) on wild individuals captured on their wintering grounds in Rimouski and (3) wild birds captured at the northernmost point of their breeding range in Alert, Nunavut (82°N). In **Chapter 1**, I studied the winter phenotypic adjustments of buntings held captive in the temperate zone. The objective was to determine if the pattern of adjustments for this cold-associated species conformed to that of resident species at the same latitudes. Increases in body and lipid mass, pectoral muscle thickness, hematocrit, and  $M_{\text{sum}}$  observed between summer and winter suggest that the phenotypic flexibility of traits associated with thermal acclimation in northern species is comparable to that of temperate resident passerines and thus that these adjustments are not constrained by life in a cold environment. However, lean mass declined and BMR remained stable over the winter, suggesting that buntings may also minimize the energetic costs of living in cold environments. In **Chapter 2**, I analyzed the phenotypic adjustment patterns of captive buntings during periods corresponding to migration and reproduction and compared them to the winter phenotype. The objective was to see if, and by what mechanism, traits associated with winter cold acclimation could be transferred to later stages of the annual cycle. The results show that although body mass, lipid mass and BMR increase for migration, traits related to cold endurance do not change in parallel since they are already elevated at the end of winter. This is the first direct demonstration that phenotypic traits associated with winter acclimation can transfer to the migratory phenotype and even be maintained during the breeding season. Through **Chapter 3**, I compared the phenotype of free-living buntings caught during winter at Rimouski and during pre-breeding at Alert. The objective was to determine whether cold endurance and associated traits could be maintained at a winter level during migration and pre-breeding. Results indicate that despite a decline in muscle thickness and hematocrit between winter and pre-breeding, cold endurance and energy reserves were maintained. These results support the hypothesis that migratory cold specialist species could maintain their cold endurance at a winter level until pre-breeding. Finally, in **Chapter 4**, I examined the change in phenotype between the pre-breeding and chick provisioning periods at Alert to determine how the transition between life stages on the breeding grounds, in interaction with spring thermal

conditions, could influence cold endurance. Results show that buntings maintain a high thermogenic capacity as long as temperatures remain below 0-2°C, whether or not they actively reproduce. These observations therefore suggest that buntings likely experience a double physiological cost in late spring, when reproductive activities (i.e., egg production and incubation) begin and air temperatures are still below 0-2°C. Overall, this study demonstrates that not all thermal acclimation mechanisms established to date are generalizable to Arctic species. It therefore provides a reference point for future comparative research.

**Keywords :** *Phenotypic flexibility, Cold acclimatization, Migration, Basal metabolic rate, Maximal thermogenic capacity, Metabolic performance, Pectoral muscles, Hematocrit, Arctic bird*

# TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	xi
RÉSUMÉ.....	xvi
ABSTRACT .....	xviii
TABLE DES MATIÈRES .....	xx
LISTE DES TABLES.....	xxvii
LISTE DES FIGURES.....	xxix
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	xxxiv
INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
I.1 AJUSTEMENTS PHÉNOTYPIQUES EN RÉPONSE AUX VARIATIONS DE L'ENVIRONNEMENT .....	2
I.2 BUDGET ÉNERGÉTIQUE ET ALLOCATION DES RESSOURCES .....	4
I.3 ACCLIMATATION AU FROID .....	7
<b>I.3.1 Limiter les pertes de chaleur .....</b>	<b>8</b>
<i>I.3.1.1 Ajustements comportementaux .....</i>	<i>8</i>
<i>I.3.1.2 Ajustements morphologiques .....</i>	<i>10</i>
<b>I.3.2 Augmenter la production de chaleur .....</b>	<b>11</b>
<i>I.3.2.1 Thermorégulation .....</i>	<i>11</i>
<i>I.3.2.2 Thermogénèse par substitution .....</i>	<i>12</i>
<i>I.3.2.3 Thermogénèse par frissonnement.....</i>	<i>13</i>
<b>I.3.3 Augmenter les apports énergétiques .....</b>	<b>15</b>
I.4. MIGRATION .....	17
<b>I.4.1 Les stratégies de migration.....</b>	<b>17</b>
<b>I.4.2 Ajustements phénotypiques et métaboliques associés à la migration .....</b>	<b>18</b>

<b><i>1.4.2.1 Augmenter les apports énergétiques</i></b> .....	18
<b><i>1.4.2.2 Maximiser la prise alimentaire avant le vol</i></b> .....	19
<b><i>1.4.2.3 Maximiser l'efficacité de vol et limiter les dépenses d'énergie</i></b> .....	20
<b>I.4.5 Conséquences des ajustements phénotypiques sur le métabolisme</b> .....	21
<b>I.5 REPRODUCTION</b> .....	23
<b>I.5.1 Régulation endocrine et recrudescence des organes reproducteurs</b> .....	23
<b>I.5.2 Coûts métaboliques de l'investissement reproducteur</b> .....	25
<b>I.5.3 Transformations liées à l'effort reproducteur</b> .....	26
<b>I.6 PARTICULARITÉ DES ESPÈCES NORDIQUES : CONNAISSANCES ACTUELLES ET</b> <b>OBJECTIFS DE L'ÉTUDE</b> .....	28
<b>I.6.1 Choix du plectrophane des neiges comme modèle d'étude</b> .....	29
<b>I.6.2 Le plectrophane des neiges s'acclimate-t-il à l'hiver comme les espèces</b> <b>résidentes des zones tempérées ?</b> .....	31
<b>I.6.3 Le plectrophane des neiges bénéficie-t-il des ajustements de</b> <b>l'acclimatation au froid hivernal pour migrer vers les régions</b> <b>arctiques ?</b> .....	33
<b>I.6.4 Le plectrophane des neiges maintient-il un phénotype hivernal jusqu'à</b> <b>son arrivée dans l'Arctique ?</b> .....	35
<b>I.6.5 L'endurance au froid hivernal du plectrophane, reste-t-elle élevée</b> <b>pendant la saison de reproduction ?</b> .....	36
<b>I.7 MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE</b> .....	38
<b>I.7.1 Phénologie du plectrophane des neiges</b> .....	38
<b>I.7.2 Captures sur les aires d'hivernage, Rimouski (Québec)</b> .....	39
<b>I.7.3 Maintien en volière extérieure</b> .....	40
<b>I.7.4 Aire de reproduction : Alert (Nunavut)</b> .....	41
<b>I.7.5 Captures sur une aire de reproduction, Alert</b> .....	42
<b>I.7.6 Mesures de composition corporelle et d'hématocrite</b> .....	43
<b>I.7.7 Mesures de performance métabolique</b> .....	44

<b>CHAPITRE 1</b> .....	<b>45</b>
1.1 RÉSUMÉ.....	47
1.2 ABSTRACT.....	48
1.3 INTRODUCTION.....	49
1.4 MATERIALS AND METHODS.....	52
<b>1.4.1 Ethics statement</b> .....	<b>52</b>
<b>1.4.2 Captive housing conditions</b> .....	<b>52</b>
<b>1.4.3 Tracking of environmental variables</b> .....	<b>53</b>
<b>1.4.4 Experimental design and sampling schedule</b> .....	<b>53</b>
<b>1.4.5 Body composition and oxygen carrying capacity</b> .....	<b>54</b>
<b>1.4.6 Metabolic performance measurements</b> .....	<b>55</b>
<b>1.4.7 Statistical analysis</b> .....	<b>57</b>
<i>1.4.7.1 Intra-seasonal variation in phenotypic traits</i> .....	<i>57</i>
<i>1.4.7.2 Relationships between phenotypic traits</i> .....	<i>59</i>
1.5 RESULTS.....	60
<b>1.5.1 Intra-seasonal variation on abiotic parameters and phenotypic traits</b> .....	<b>60</b>
<i>1.5.1.1 Temperature and day length</i> .....	<i>60</i>
<i>1.5.1.2 Body composition and oxygen carrying capacity</i> .....	<i>61</i>
<i>1.5.1.3 Metabolic performance</i> .....	<i>64</i>
<i>1.5.1.4 Relationships between phenotypic traits</i> .....	<i>66</i>
1.6 DISCUSSION.....	68
<b>1.6.1 Changes in body composition through time</b> .....	<b>68</b>
<b>1.6.2 Changes in metabolic performance through time</b> .....	<b>70</b>
<i>1.6.2.1 Summit metabolic rate (<math>M_{sum}</math>) and <math>T_a</math> at <math>M_{sum}</math></i> .....	<i>70</i>
<i>1.6.2.2 Oxygen carrying capacity and <math>M_{sum}</math></i> .....	<i>71</i>
<i>1.6.2.3 Basal Metabolic Rate</i> .....	<i>72</i>
<b>1.6.3 Conclusion</b> .....	<b>73</b>



<b>CHAPITRE 2</b> .....	<b>75</b>
2.1 RÉSUMÉ .....	77
2.2 ABSTRACT.....	78
2.3 INTRODUCTION .....	79
2.4 MATERIALS AND METHODS .....	82
<b>2.4.1 Captive housing conditions</b> .....	<b>82</b>
<b>2.4.2 Air temperature measurements</b> .....	<b>83</b>
<b>2.4.3 Experimental design and sampling sequence</b> .....	<b>83</b>
<b>2.4.4 Hematocrit and body composition measurements</b> .....	<b>83</b>
<b>2.4.5 Metabolic performance measurements</b> .....	<b>84</b>
<b>2.4.6 Molt intensity and timing</b> .....	<b>86</b>
<b>2.4.7 Statistical analysis</b> .....	<b>86</b>
2.5 RESULTS .....	88
<b>2.5.1 Air temperature</b> .....	<b>88</b>
<b>2.5.2 Body composition and oxygen carrying capacity</b> .....	<b>89</b>
<b>2.5.3 Metabolic performance</b> .....	<b>93</b>
<b>2.5.4 Molt intensity</b> .....	<b>97</b>
2.6 DISCUSSION .....	97
<b>2.6.1 Changes in body composition only partially follow the typical pattern of migratory birds</b> .....	<b>98</b>
<b>2.6.1.1 Increase in fat and total body mass for migration</b> .....	<b>98</b>
<b>2.6.1.2 Maintenance of lean mass and pectoral muscle thickness at a winter level</b>	<b>100</b>
<b>2.6.2 Winter cold endurance carries over into migration and beyond</b> .....	<b>101</b>
<b>2.6.2.1 Maintenance of thermogenic capacity and cold endurance at a winter level</b>	<b>101</b>
.....	<b>101</b>
<b>2.6.2.2 Thermogenic capacity, pectoral muscle thickness and oxygen carrying capacity</b>	<b>102</b>
.....	<b>102</b>
<b>2.6.2.3 Migration related changes in basal metabolic rate</b> .....	<b>102</b>
<b>2.6.3 Conclusion</b> .....	<b>103</b>

<b>CHAPITRE 3.....</b>	<b>105</b>
3.1 RÉSUMÉ.....	107
3.2 ABSTRACT.....	108
3.3 INTRODUCTION.....	109
3.4 MATERIALS AND METHODS.....	111
<b>3.4.1 Study species.....</b>	<b>111</b>
<b>3.4.2 Ethics statement.....</b>	<b>112</b>
<b>3.4.3 Ethics Study sites, capture and measurements protocol.....</b>	<b>112</b>
<i>3.4.3.1 On the breeding grounds.....</i>	<i>112</i>
<i>3.4.3.2 On the wintering grounds.....</i>	<i>113</i>
<b>3.4.4 Metabolic performance.....</b>	<b>114</b>
<b>3.4.5 Weather data.....</b>	<b>115</b>
<b>3.4.6 Statistical analysis.....</b>	<b>116</b>
3.5 RESULTS.....	117
<b>3.5.1 Weather conditions.....</b>	<b>117</b>
<b>3.5.2 Phenotype comparisons between winter and pre-breeding.....</b>	<b>117</b>
3.6 DISCUSSION.....	119
<b>3.6.1 Thermogenic capacity, body mass and fat stores remain high up to the         breeding ground.....</b>	<b>120</b>
<b>3.6.2 Lower oxygen carrying capacity and smaller pectoralis muscles on the         breeding grounds.....</b>	<b>121</b>
<b>3.6.3 Physiological maintenance costs are higher on the breeding grounds.....</b>	<b>122</b>
<b>CHAPITRE 4.....</b>	<b>124</b>
4.1 RÉSUMÉ.....	126
4.2 ABSTRACT.....	127
4.3 INTRODUCTION.....	128
4.4 MATERIALS AND METHODS.....	133
<b>4.4.1 Study species.....</b>	<b>133</b>

4.4.2 Study sites, capture and measurements protocol .....	133
4.4.3 Metabolic performance.....	134
4.4.4 Weather data .....	136
4.4.5 Statistical analysis .....	136
4.5 RESULTS .....	137
4.5.1 Weather conditions .....	137
4.5.2 Effects of LH-stages and Ta on metabolic performance and associated traits .....	139
4.6 DISCUSSION .....	144
4.6.1 Body mass and fat storage decline as birds begin to breed .....	144
4.6.2 Maintenance costs decline with breeding, but cold endurance traits respond to warming temperatures .....	146
4.6.3 Snow buntings may be paying double physiological costs in late spring years .....	148
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>151</b>
C.1 RETOUR SUR LES DÉCOUVERTES CLÉS .....	152
C.2 ORIGINALITÉ ET PERTINENCE DE L'ÉTUDE .....	157
C.2.1 Choix du modèle d'étude .....	157
C.2.2 Mesures répétées à fine échelle .....	158
C.2.3 Expérimentation en conditions semi-naturelles .....	158
C.2.4 Plusieurs niveaux d'organisation.....	159
C.3 LIMITES DE L'ÉTUDE.....	159
C.3.1 Limites dans la récolte de données des oiseaux captifs .....	159
C.3.2 Limites des recherches en conditions naturelles .....	160
C.3.3 Limites des paramètres mesurés .....	162
C.3.4 Limites de l'interprétation.....	163
C.4 PERSPECTIVES DE RECHERCHE.....	163
C.4.1 Étude à fine échelle de la composition corporelle.....	163

<b>C.4.2 Étude sur les contraintes hivernales liées au sexes .....</b>	<b>164</b>
<b>C.4.3 Étude de la stratégie d’engraissement pendant la migration .....</b>	<b>166</b>
<b>C.4.4 Étude de l’influence de la photopériode .....</b>	<b>167</b>
<b>C.4.5 Étude plus détaillée de la période de reproduction .....</b>	<b>168</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>170</b>
<b>RÉFÉRENCES .....</b>	<b>175</b>

# LISTE DES TABLES

<b>Table I.1</b> Catégories de plasticité phénotypiques selon 3 critères. Adapté de Piersma & van Gils (2010). .....	3
<b>Table 3.1</b> List of phenotypic traits measured in this study and their responses to cold and winter in passerine birds. ....	111
<b>Table 3.2</b> Air temperatures recorded at the peak of winter at Rimouski (QC) averaged from 2015 to 2018 and in the spring at Alert (NU) averaged from 2016 to 2019. ....	117
<b>Table 3.3</b> Linear mixed-effects models comparing phenotypic traits in snow buntings measured during wintering at Rimouski and during pre-breeding at Alert. Models also considered the effect of sex on body mass and fat scores and included covariates meaningful to specific dependent variables. See text for details. ....	118
<b>Table 4.1</b> List of phenotypic traits measured in this study and their responses to cold in passerine birds. ....	131
<b>Table 4.2</b> Average monthly ambient air temperatures during the breeding season recorded at Alert (NU) between 2016 and 2019. Letters indicate significant differences (Tukey's HSD $P < 0.05$ ) between years within months. ....	137
<b>Table 4.3</b> Linear mixed effects models comparing phenotypic traits among life-history stages in snow buntings breeding at Alert, Nunavut, Canada. Models also included covariates meaningful to specific dependent variables. See text for details. ....	140
<b>Table A.1</b> Measurement sequence and sample size across years for metabolic performance (summit metabolic rate [ $M_{sum}$ ] and basal metabolic rate [BMR]), hematocrit (HCT), pectoralis muscle thickness, and body composition (total, fat, and lean body mass) .....	170
<b>Table A.2</b> Measurement sequence and sample size across years for $M_{sum}$ and BMR [metabolic performance (Meta. perf.)], haematocrit (HCT), pectoral muscle thickness	

(muscles), total, fat and lean body mass (body composition). Numbers in parentheses in metabolic performance are sample sizes for  $M_{\text{sum}}$  when different from BMR. Numbers in parentheses in HCT & Muscles are sample sizes for haematocrit when different from muscle thickness. Fat and lean mass measurements by QMR began in 2015. (Moult) means that individual moult scores were measured on birds at the same time as the body composition measurements. As we were interested in tracking intra-individual phenotypic variation, each bird was measured from mid-March to August over the 5 years (metabolic performance:  $8.8 \pm 0.4$  times, range 3-10 times; body composition:  $12.4 \pm 1.3$  times, range 1-47 times). Measurement frequency varied from 5 measurement periods in 2014 to 21 measurement periods in 2015. .... 171

**Table A.3** Sample size across years and periods for body mass, fat score, hematocrit, pectoralis muscle thickness,  $M_{\text{sum}}$  and BMR in snow buntings measured in winter in Rimouski, Québec, Canada and in pre-breeding at Alert, Nunavut, Canada. Blue values correspond to the number of males and red values to the number of females. .... 172

**Table A.4** Sample size across years and life-history stages for body mass, fat score, hematocrit, pectoralis muscle thickness,  $M_{\text{sum}}$  and BMR in snow buntings measured at Alert, Nunavut, Canada. Blue values correspond to the number of males and red values to the number of females. .... 173

## LISTE DES FIGURES

- Figure I.1** Diagramme des relations potentielles entre les indices environnementaux et les réponses adaptatives ultimes (génétiques) et proximales (flexibilité phénotypique) des organismes. Les réponses ultimes et proximales qui représentent la plasticité phénotypique peuvent interagir entre elles pour adapter de manière optimale les phénotypes aux exigences environnementales et améliorer ainsi la valeur sélective. Adaptée de Swanson & Vézina (2015). .....3
- Figure I.2** Représentation du budget énergétique selon le modèle du baril. Après digestion et absorption, l'assimilation des nutriments apporte l'énergie nécessaire à l'organisme (baril) pour répondre aux dépenses énergétiques (les robinets) comme la production de chaleur, la locomotion, la croissance, le taux métabolique. Une partie de l'énergie non assimilée par l'organisme est évacuée. Adaptée de Weiner (1992). .....5
- Figure I.3** Influence de la température ambiante ( $T_a$ ) sur le métabolisme et la température corporelle ( $T_b$ ) d'un endotherme de petite taille. Dans la zone de neutralité thermique, le taux métabolique est constant, on peut y mesurer le métabolisme de base (BMR) d'un individu adulte, s'il est au repos et à jeun. Hors de la TNZ, le métabolisme augmente. Quand la température ambiante se refroidit, l'individu atteint sa capacité thermogénique maximale mesurable via son métabolisme maximal, le  $M_{sum}$ . À ce stade, l'individu entre en hypothermie et son métabolisme diminue. Adaptée de Willmer et al. (2005). ..... 11
- Figure I.4** Ajustements physiologiques, morphologiques et comportementaux pouvant être mis en place lors de l'acclimatation au froid hivernal chez les espèces aviaires de petite taille. Les paramètres mesurés dans les différents chapitres de cette thèse sont représentés par le cercle rouge. .... 16
- Figure I.5** Carte de distribution annuelle du plectropane des neiges en Amérique du nord. © BirdLife International (2021) and Montgomerie & Lyon, 2020 .....29
- Figure I.6** Capture de plectrophanes à l'aide de trappes de type « *walk-in* » sur une aire d'hivernage à Rimouski (QC), Canada. © Audrey Le Pogam .....40
- Figure I.7** Volière extérieure où sont maintenus les plectrophanes des neiges pendant l'année (A). Plectrophanes des neiges maintenus captifs (B). © Audrey Le Pogam .....41

- Figure I.8** Capture de plectrophanes de neiges à l'aide de trappes de type « *potter* » et « *spring* », en période de défense de territoires ou de reproduction à Alert (NU). © Audrey Le Pogam ..... 42
- Figure I.9** Appareil à résonance magnétique quantitative QMR EchoMRI® permettant d'estimer la masse lipidique et maigre des oiseaux (A). Plectrophane des neiges maintenu dans un tube de plexiglas afin d'être mesuré par QMR (B). Réalisation d'une échographie pour mesurer l'épaisseur des muscles pectoraux (C). Prélèvement sanguin au niveau de la veine alaire (D). © Audrey Le Pogam..... 43
- Figure I.10** Système de respirométrie utilisé à Alert pour mesurer la performance métabolique ( $M_{sum}$  et BMR) des plectrophanes des neiges. © Audrey Le Pogam..... 44
- Figure 1.1** Variation in mean, minimum and maximum temperatures and in day length experienced by outdoor captive snow buntings in Rimouski, Québec, Canada from 2013 to 2018..... 60
- Figure 1.2** Intra-seasonal variation in body composition and hematocrit over five years in outdoor captive snow buntings. Data are least square means ( $\pm$  SEM) by month for body mass (A), fat mass (B), lean mass (C), pectoralis muscle thickness (D) and hematocrit (E). Least square means were obtained from a mixed GLM controlling for month with year and bird ID as random parameters. Least square means in A, C and D also control for structural body size (not significant for fat mass) and, in D, for keel length. Least square means per year (gray) were obtained from a mixed GLM controlling for the same parameters except year..... 63
- Figure 1.3** Intra-seasonal variation in metabolic performance over five years in outdoor captive snow buntings. Data are least square means ( $\pm$  SEM) by month for  $M_{sum}$  (A), time to  $M_{sum}$  and  $T_a$  at  $M_{sum}$  (B) as well as BMR (C). Least square means were obtained from a mixed GLM controlling for month and lean body mass for all parameters (lean mass not significant for  $T_a$  at  $M_{sum}$  and time to  $M_{sum}$ ) with year and bird ID as random parameters. Least square means per year (gray) were obtained from a mixed GLM controlling for the same parameters except year..... 65
- Figure 1.4** Relationships between phenotypic traits in outdoor captive snow buntings. Presented are results of regression analyses testing for relationships between body mass and fat mass (A), lean mass and fat mass (B), pectoralis muscle thickness and fat mass (C), pectoralis muscle thickness and hematocrit (D),  $M_{sum}$  and hematocrit (E) and  $M_{sum}$



and pectoralis muscle thickness (F). Values are monthly least square means ( $\pm$  SEM) generated by our mixed effect models and are based on the period from August to March. ....67

**Figure 2.1** Variation in mean, minimum and maximum air temperatures experienced by outdoor captive snow buntings in Rimouski, Québec, Canada from 2014 to 2018. ....88

**Figure 2.2** Intra-seasonal variation in body composition over five years in outdoor captive snow buntings. Data are least square means by period within months for body mass (A), fat mass (B) and lean mass (C). Least square means were obtained from mixed-effects models controlling for month with year and bird ID as random parameters. Least square means also control for structural body size in A and C (not significant for fat mass) and for time of capture in B (not significant for body mass and lean mass). Least square means per year (gray) were obtained from mixed-effects models controlling for the same parameters except year. Values on the left represent winter means extracted from those same models. Insert in Figure 2.2B shows the relationship between body mass and fat mass using monthly least square means generated by our mixed-effects models ( $n = 21$ ,  $r^2 = 0.96$ ,  $P < 0.0001$ ). Data are least square means with error bars representing 95% confidence intervals. ....91

**Figure 2.3** Intra-seasonal variation in pectoral muscle thickness and hematocrit in 2015 in outdoor captive snow buntings. Data are least square means by period within months for pectoral muscle thickness (A) and hematocrit (B). Least square means were obtained from mixed-effects models controlling for period with bird ID as a random parameter. Least square means in A also control for structural body size and keel length. Winter means extracted from those same models are also presented. Data are least square means with error bars representing 95% confidence intervals. ....92

**Figure 2.4** Intra-seasonal variation in metabolic performance in 2015 in outdoor captive snow buntings. Data are least square means by period within months for  $M_{sum}$  (A), time to  $M_{sum}$  and  $T_a$  at  $M_{sum}$  (B) as well as for BMR (C). Least square means were obtained from mixed-effects models controlling for period and lean body mass (not significant for time to  $M_{sum}$ ) with bird ID as a random parameter. Winter means are extracted from those same models. Data are least square means with error bars representing 95% confidence intervals. ....95

**Figure 2.5** Relationships between  $M_{sum}$  and pectoral muscle thickness (A) and hematocrit (B) in outdoor captive snow buntings. Values are least square means

generated by our mixed-effects models and are based on measurement periods between March and August in 2015. Error bars show 95% confidence intervals. .... 96

**Figure 2.6** Relationship between lean mass and moult intensity measured from June to October 2018. Values are least square means generated by mixed-effects models controlling for month and bird ID as random parameters. Least square means for lean mass also control for structural body size. Error bars represent 95% confidence intervals. .... 97

**Figure 3.1** Comparing hematocrit (**A**), pectoralis muscle thickness (**B**), mass-independent  $M_{sum}$  (**C**) and mass-independent BMR (**D**) in snow buntings measured in winter in Rimouski, Québec, Canada and during pre-breeding at Alert, Nunavut, Canada. A star indicates significant differences. Numbers indicate sample size for each group. Values in red are least means  $\pm$  CI controlling for the random effect of year and for covariates in models including body mass for  $M_{sum}$  and BMR, thus making these variables “mass-independent”. Grey dots show data predicted by models including fixed and random effects. .... 119

**Figure 4.1** Visual representation of the 3 hypotheses tested in this study. Buntings could either maintain a winter-type phenotype through breeding (hypothesis 1), loose cold endurance when ambient temperature rise above a certain threshold, independently from breeding (hypothesis 2) or be unable to maintain cold endurance while breeding, irrespective of temperature (hypothesis 3) See text in figure and introduction for more details. .... 132

**Figure 4.2** Ambient air temperatures (A, B, C and D) and snow depth (E), at Alert, Nunavut, Canada during spring (2016 to 2019). Temperature data show mean daily values (*dots*) as well as the recorded range of daily minimum and maximum values (*dotted lines*). The hatched period corresponds to the days when the average temperature over 7 days was equal or lower than 1.9°C, the threshold temperature for  $M_{sum}$  (see main text). The life history (LH) -stages of snow buntings used in this study are represented as lines above each graph (A to D) with the top line being pre-breeding, the middle establishment of territories, and the bottom breeding. The dotted line portion in 2018 and 2019 corresponds to the nestling provisioning stage. The X symbol represent the dates of first observation of birds on the study site. Others symbols

represent the first and last capture of pre-breeding (●), territorial (■) and breeding (▲) individuals. Numbers at the right of each line represent sample sizes.....138

**Figure 4.3** The effect of life history (LH) -stage on size-independent body mass (A) and fat score (B) in snow bunting breeding at Alert, Nunavut, Canada. Letters indicate significant differences (Tukey's HSD  $P < 0.05$ ). Numbers within bars indicate sample size for each group. Values presented as mean  $\pm$  SEM. ....141

**Figure 4.4** Relationship between hematocrit and ambient air temperature in relation to life history stages in snow buntings breeding at Alert, Nunavut, Canada. ....142

**Figure 4.5** Relationships between probe-residuals of pectoralis muscle thickness and ambient air temperature in relation to life-history stages and year in snow buntings at Alert, Nunavut, Canada. ....142

**Figure 4.6** Relationship between mass-residuals of  $M_{\text{sum}}$  and ambient air temperature according to life-history stages and year in snow buntings at Alert, Nunavut, Canada. ....143

**Figure 4.7** Relationship between probe-residuals of muscle thickness and ambient temperature (A) and between mass-residuals of  $M_{\text{sum}}$  and ambient air temperature (B) in snow buntings at Alert, Nunavut, Canada. Temperature values and arrow show the inflexion points for these two parameters. ....143

**Figure A.1** Intra-seasonal variation in metabolic performance in 2015 in outdoor captive snow buntings. Data are least square means by period within months for  $M_{\text{sum}}$  (A),  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$  (B) and BMR (C). Least square means were obtained from mixed-effects models controlling for period with bird ID as a random parameter. Winter values for 2015 were extracted from the same models. Data are least square means with error bars representing 95% confidence intervals. ....174

# LISTE DES ABRÉVIATIONS

<b>BMR</b>	<i>Basal Metabolic Rate</i> pour taux métabolique de base
<b>GLM</b>	<i>General Linear Model</i> pour modèle linéaire généralisé
<b>HCT</b>	<i>Hematocrit</i> pour hématoците
<b>M<sub>b</sub></b>	<i>Body mass</i> pour masse corporelle
<b>M<sub>sum</sub></b>	<i>Summit metabolic rate</i> pour Sommet métabolique
<b>QMR</b>	<i>Quantitative Magnetic Resonance</i> pour résonance quantitative magnétique
<b>T<sub>a</sub></b>	<i>Ambient temperature</i> pour température ambiante
<b>T<sub>b</sub></b>	<i>Body temperature</i> pour température corporelle
<b>TNZ</b>	<i>ThermoNeutral Zone</i> pour zone de thermoneutralité
<b><math>\dot{V}O_2</math></b>	<i>Oxygen consumption rate</i> pour taux de consommation d'oxygène

# INTRODUCTION

## GÉNÉRALE

---



## INTRODUCTION GÉNÉRALE

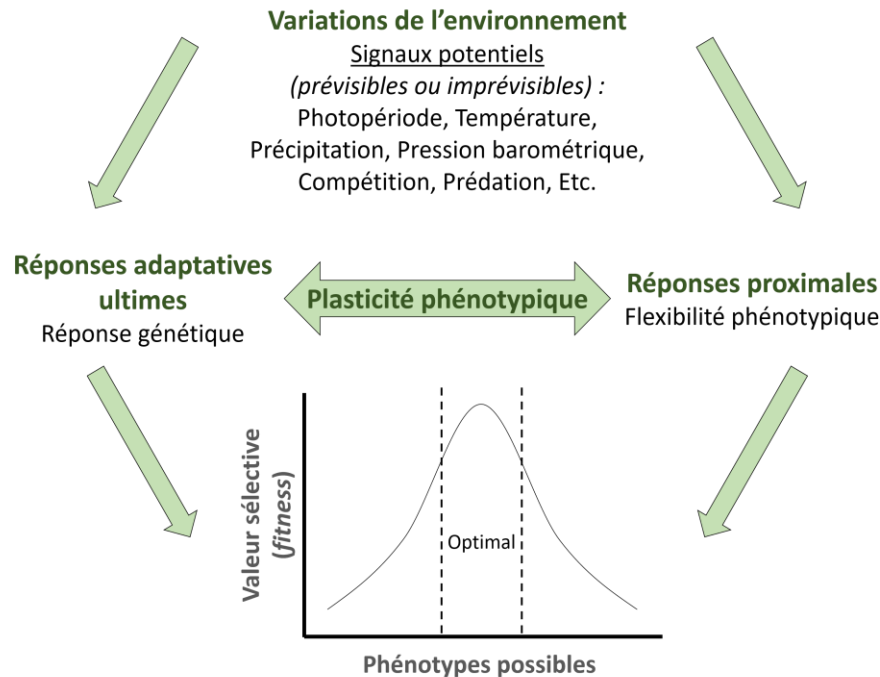
### I.1 AJUSTEMENTS PHÉNOTYPIQUES EN RÉPONSE AUX VARIATIONS DE L'ENVIRONNEMENT

Tout au long de leur vie, les organismes sont soumis à des variations environnementales qui nécessitent des ajustements phénotypiques sur diverses échelles de temps. Ces ajustements passent par des mécanismes multiples et non exclusifs qui peuvent impliquer des transformations morphologiques, physiologiques ou comportementales et visent à maximiser la valeur sélective des individus (c-à-d., fitness) (Pigliucci, 2005). Étudier la capacité d'ajustement des organismes est donc indispensable pour comprendre l'effet des variations environnementales sur la valeur sélective, la dynamique des populations et le devenir des espèces. Les ajustements phénotypiques sont de plus en plus étudiés en recherche fondamentale, notamment à cause des changements climatiques auxquels nous faisons face actuellement.

La capacité d'un génotype à produire des phénotypes distincts en réponse aux variations de l'environnement pendant l'ontogenèse est appelée plasticité phénotypique (Pigliucci, 2005). Les exemples de plasticité sont multiples : le cœur d'un humain qui s'atrophie lorsqu'il est en orbite est le résultat d'une diminution du volume sanguin et du rythme cardiaque causés par l'apesanteur et/ou la réduction de l'exercice (Hill & Olson, 2008), les boutons-d'or (*Ranunculus flammula L.*) qui ont des fleurs larges ou effilées est le résultat d'un environnement terrestre ou aquatique (Cook & Johnson, 1968), la taille des oursins des Caraïbes (*Diadema antillarum*) est une conséquence du taux d'abondance de nourriture dans l'environnement local (Levitant, 1989). Chacun des cas de plasticité phénotypique a des particularités qui font qu'ils se classent dans différentes catégories selon 3 critères (1) si le phénotype est fixe ou réversible (2) si la variabilité a lieu au sein ou entre un ou plusieurs individus/génération et (3) si le changement phénotypique est saisonnier/cyclique (Tableau I.1, Piersma & van Gils, 2011).

**Table I.1** Catégories de plasticité phénotypiques selon 3 critères. Adapté de Piersma & van Gils (2010).

Catégorie de plasticité phénotypique	Changement phénotypique réversible	Changement au sein d'un individu	Changement cyclique ou saisonnier
Plasticité développementale	Non	Non	Non
Polyphénisme	Non	Non	Oui
<b>Flexibilité phénotypique</b>	Oui	Oui	Non
<b>Stade d'histoire de vie</b>	Oui	Oui	Oui



**Figure I.1** Diagramme des relations potentielles entre les indices environnementaux et les réponses adaptatives ultimes (génétiques) et proximales (flexibilité phénotypique) des organismes. Les réponses ultimes et proximales qui représentent la plasticité phénotypique peuvent interagir entre elles pour adapter de manière optimale les phénotypes aux exigences environnementales et améliorer ainsi la valeur sélective. Adaptée de Swanson & Vézina (2015).

Ainsi, suivant si les variations environnementales sont faibles ou élevées, prévisibles (p. ex., photopériode) ou imprévisibles (p. ex., température, précipitations), les organismes vont y répondre de 2 manières différentes : par des réponses adaptatives ultimes (c.-à-d.,

plasticité développementale, polyphénisme qui correspond à la capacité de certains organismes à produire différents phénotypes discrets au cours d'une saison pour s'adapter aux changements saisonniers de l'environnement) ou par des réponses proximales (c.-à-d., flexibilité phénotypique, stade d'histoire de vie) (Figure I.1). Ces réponses peuvent interagir entre elles pour adapter de manière optimale le phénotype des organismes aux exigences environnementales et améliorer ainsi la valeur sélective (Figure I.1).

Dans cette étude, nous nous intéressons essentiellement à la **flexibilité phénotypique**, c'est à dire aux transformations phénotypiques intra-individuelles et réversibles en réponse aux contraintes de l'environnement, lorsque ce dernier est variable et relativement prévisible (Piersma & Drent, 2003; Piersma & van Gils, 2011). Nous traiterons également des ajustements phénotypiques réversibles qui ont lieu dans des environnements saisonniers prévisibles où certaines activités telles que la reproduction, la migration et la mue, se répètent les unes après les autres au cours des cycles annuels, c'est à dire les **stades d'histoire de vies**.

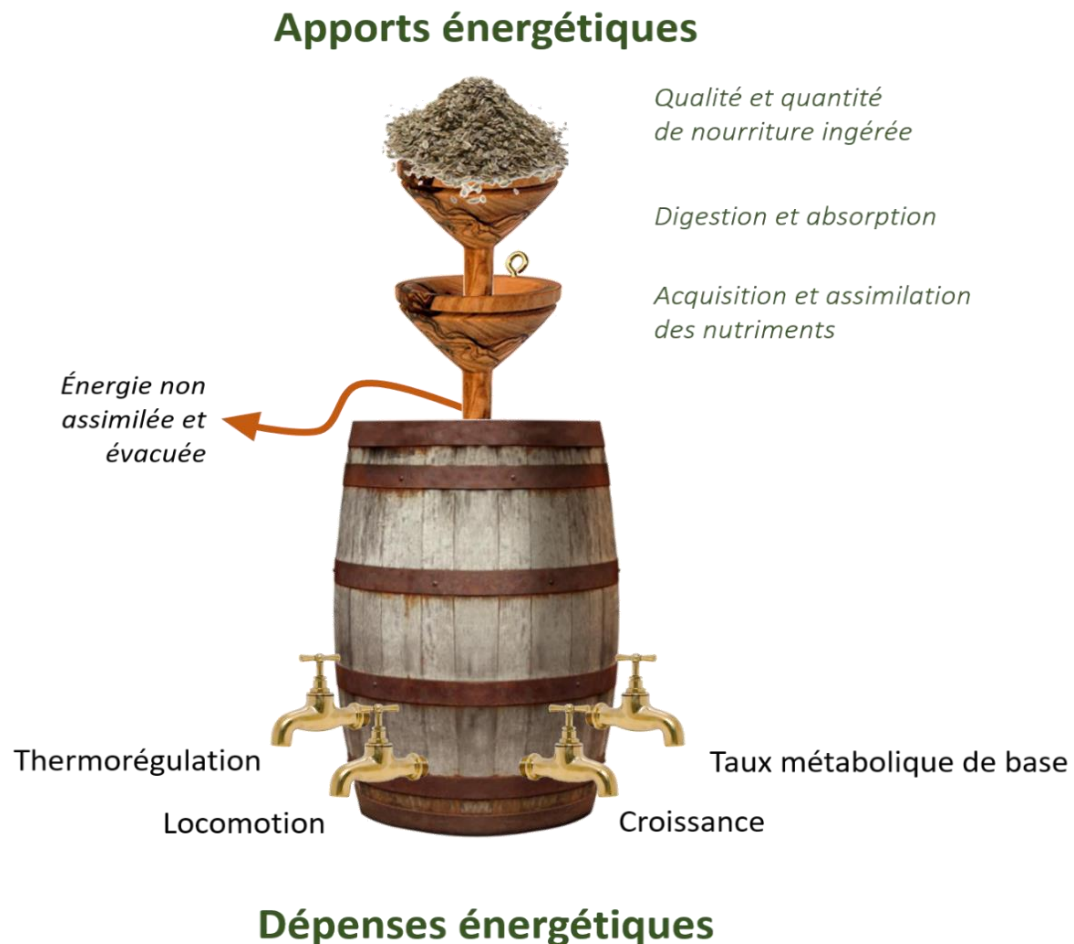
Les recherches sur la flexibilité phénotypique se sont multipliées au cours des dernières décennies après que Piersma & Drent (2003) aient fait la distinction claire entre plasticité et flexibilité phénotypique (Vézina & Salvante, 2010). Cependant, bien que la flexibilité phénotypique puisse s'appliquer à tous les taxons, la recherche impliquant des modèles aviaires s'est particulièrement développée au cours des dernières années (Vézina & Salvante, 2010). Par exemple, les ajustements phénotypiques du système endocrinien, de la taille des organes, de la gestion de réserves en carburant et de la performance métabolique ont beaucoup été étudiés dans divers contextes comme la migration ou encore l'acclimatation thermique saisonnière (p. ex., Piersma et al. 1999; Landys-Ciannelli et al. 2003; McWilliams et al. 2004; McKechnie et al. 2015; Guglielmo 2018).

## **I.2 BUDGET ÉNERGÉTIQUE ET ALLOCATION DES RESSOURCES**

L'énergie est une notion universelle et une valeur de comparaison en biologie aviaire. Toute structure biologique a un contenu énergétique et toute fonction physiologique ou activité nécessite une transformation métabolique de l'énergie. Ainsi, la capacité à acquérir



chaque jour suffisamment d'énergie pour assurer l'ensemble de ses activités intervient dans la valeur sélective d'un individu (Brodin, 2007).



**Figure I.2** Représentation du budget énergétique selon le modèle du baril. Après digestion et absorption, l'assimilation des nutriments apporte l'énergie nécessaire à l'organisme (baril) pour répondre aux dépenses énergétiques (les robinets) comme la production de chaleur, la locomotion, la croissance, le taux métabolique. Une partie de l'énergie non assimilée par l'organisme est évacuée. Adaptée de Weiner (1992).

L'acquisition de l'énergie provient essentiellement des ressources alimentaires disponibles dans l'environnement mais peut être limitée par plusieurs facteurs comme : la quantité des ressources disponibles (p. ex., quantité de nourriture), la qualité de ces ressources (p. ex. contenu lipidique, nutriments), la capacité de recherche, d'acquisition, d'ingestion et de digestion de ces ressources ainsi que la capacité à en assimiler l'énergie (Figure I.2). Les

dépenses énergétiques quotidiennes quant à elles englobent toutes les activités réalisées par un individu (p. ex., locomotion, digestion, thermorégulation) (Piersma et al., 2001; Ricklefs, Konarzewski, & Daan, 1996) (Figure I.2). La somme des apports et des dépenses énergétiques constitue ainsi le budget énergétique. Plus un budget énergétique est équilibré, plus les individus peuvent être performants puisqu'ils ont assez d'énergie à allouer à leurs activités. Par contre, dans un environnement contraignant où les besoins énergétiques sont accrus et les ressources limitées, les individus peuvent avoir un budget énergétique négatif car ils n'ont pas assez d'énergie disponible pour maintenir l'ensemble de leurs activités (p. ex., recherche alimentaire). À long terme, un budget énergétique négatif peut donc compromettre la valeur sélective de ces individus. Selon le principe d'allocation des ressources (Daan, Masman, & Groenewold, 1990; Weathers & Sullivan, 1993; Weiner, 1992), dans une situation énergétiquement coûteuse, les individus utilisent des ajustements phénotypiques afin de diminuer leurs dépenses et/ou d'augmenter leurs apports et rééquilibrer leur budget énergétique (Masman et al., 1986).

Avant de présenter les objectifs de cette étude, la suite de cette introduction fera un état des lieux des ajustements phénotypiques réversibles observés chez les oiseaux, qui sont des endothermes homéothermes (organismes qui produisent leur propre chaleur indépendamment des températures ambiantes et qui maintiennent une température corporelle stable). Ces ajustements seront présentés dans 3 contextes différents : (1) lors de l'acclimatation au froid (2) lors de la migration printanière et (3) lors de la reproduction. Comme les 3 chapitres de cette étude sont essentiellement basés sur ces stades d'histoire de vie, il est important de bien comprendre, au préalable, les ajustements et mécanismes mis en œuvre au cours de ces périodes mais aussi pendant les transitions entre ces stades, transitions qui sont critiques pour les oiseaux, mais souvent peu étudiées. Les traits phénotypiques sur lesquels sont basés les chapitres de cette étude ont été mis en gras dès leur première mention dans l'introduction.

### I.3 ACCLIMATATION AU FROID

Pour la plupart des espèces aviaires, l'hiver en zone tempérée est considéré comme une période de défis énergétiques majeurs (Cooper 2000, Weather et Sullivan, 1993), d'une part parce que les basses températures entraînent une augmentation des dépenses énergétiques associée à la thermorégulation afin de maintenir une température corporelle stable et d'autre part parce qu'une réduction de la durée du jour combinée à la couverture de neige restreint l'accès aux ressources alimentaires et/ou le rend imprévisible, ce qui peut limiter les apports énergétiques (McNamara & Houston, 1990; Swanson, 2010). L'acclimatation hivernale réfère aux ajustements phénotypiques qui permettent aux espèces aviaires de survivre dans ces conditions où les dépenses énergétiques sont importantes et les ressources limitées et imprévisibles. En anglais le terme « *acclimation* » se distingue du terme « *acclimatization* ». Le premier représente les ajustements phénotypiques en conditions expérimentales et le deuxième en conditions naturelles (Bush, Brown, & Downs, 2008; Piersma & Drent, 2003; Wilson & Franklin, 2002). Bien qu'en français, cette distinction linguistique ne soit pas faite (les deux cas sont appelés acclimatation), cette étude porte uniquement sur « *l'acclimatization* ».

Dans le cadre de l'acclimatation hivernale, l'ensemble des ajustements physiologiques, morphologiques et comportementaux mis en place par les oiseaux permet d'équilibrer le budget énergétique et d'augmenter la production de chaleur. Ces ajustements peuvent varier selon les espèces et le temps d'exposition au froid (p. ex., Cooper & Swanson 1994; Sharbaugh 2001; McKechnie et al. 2015). Par exemple, les espèces de petite taille telles que les passereaux auront des pertes de chaleur plus importantes relativement aux espèces de grande taille dû à leur ratio surface/volume élevé (Mcnab, 1971). Cela s'explique par le fait que lorsque la taille d'un corps augmente, celui-ci augmente moins rapidement en surface (au carré) qu'en volume (au cube). Ainsi, les pertes de chaleur sont proportionnelles à la surface corporelle tandis que la production de chaleur est proportionnelle au volume corporel (c.-à-d. la masse des organes métaboliquement actifs) (Mcnab, 1971). Par conséquent, les dépenses énergétiques par unité de masse pour la thermorégulation sont plus élevées chez les espèces de petite taille parce qu'elles perdent relativement plus de chaleur que les espèces de grande taille, et ce en tout temps. Dans ce contexte, la gestion des réserves énergétiques devient cruciale pour la survie des petites

espèces (Cooper & Swanson, 1994; Liknes & Swanson, 1996). Le temps d'exposition au froid peut également varier selon la localisation des espèces. Les espèces aviaires résidant dans les hautes latitudes ( $>50^{\circ}\text{N}$ ) ou altitudes sont confrontées à des températures froides la majeure partie de l'année (Brooks, 1968; Pohl & West, 1973; Sharbaugh, 2001; White & West, 1977) alors que les espèces vivant dans les zones tempérées y sont confrontées seulement de façon saisonnière (c.-à-d. l'hiver) (Cooper & Swanson, 1994; McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; Petit, Lewden, & Vézina, 2013; Swanson & Liknes, 2006). Il arrive aussi que certaines espèces n'y soient confrontées qu'une partie de la journée (c.-à-d., pendant la nuit ou lors d'une immersion dans l'eau).

### **I.3.1 Limiter les pertes de chaleur**

Les échanges de chaleur entre un animal et son environnement empruntent quatre voies. Un animal peut gagner ou perdre de la chaleur par radiation thermique via l'émission d'ondes infrarouges (Hill, Wyse, & Anderson, 2012). Un animal peut également perdre une partie de sa chaleur corporelle par convection dans un fluide, que ce soit l'air ou l'eau, lorsque le fluide en déplacement est réchauffé à la surface de l'animal et ensuite remplacé par un fluide plus froid. La chaleur peut aussi être échangée par conduction directe entre l'animal et la surface d'un objet avec lequel il est en contact (Willmer, Stone, & Johnston, 2005). Finalement, un animal peut perdre de la chaleur par évaporation, que ce soit dû à un pelage ou plumage mouillé, par évaporation de la sueur ou encore par respiration (Randall, Burggren, & French, 2004). Les animaux exposés à des températures froides perdent donc de la chaleur en continu et doivent développer des mécanismes pour y faire face (Hohtola, 2004; Lewden, 2017; Marsh & Dawson, 1989; Swanson & Garland, 2009).

#### **I.3.1.1 Ajustements comportementaux**

Parmi les ajustements comportementaux permettant de limiter les pertes de chaleur, il y a l'évitement, qui consiste à se retirer physiquement de l'environnement froid. Les espèces aviaires qui optent pour cette stratégie migrent généralement sur de longues distances afin d'atteindre des zones plus chaudes (Newton, 2008). Bien que ces espèces migratrices seraient

équipées pour supporter des conditions froides (p. ex., bruant à gorge blanche (*Zonotrichia albicollis*) capable d'endurer  $-29^{\circ}\text{C}$  en captivité, Kontogiannis 1968), c'est probablement la quantité de ressources disponibles dans l'environnement qui oriente cette stratégie. Alternativement, d'autres espèces peuvent effectuer des déplacements locaux. Cette stratégie appelée nomadisme permet aux espèces de se déplacer continuellement entre les régions où les ressources alimentaires sont temporairement plus abondantes (Newton, 2008).

Les espèces aviaires qui restent dans les environnements froids peuvent aussi économiser leur énergie en diminuant volontairement leur température corporelle. Par exemple, les oiseaux qui modulent leur température corporelle peuvent entrer en hypothermie contrôlée en abaissant leur température de quelques degrés passant de  $41^{\circ}\text{C}$  à  $\sim 38^{\circ}\text{C}$ , ou passer en torpeur plus profonde pour atteindre des températures corporelles aussi basses que  $4^{\circ}\text{C}$  selon la température ambiante (Bicudo et al., 2010; Reinertsen, 1996; Ruf & Geiser, 2015). La durée de ces périodes est généralement de quelques heures pour la grande majorité des oiseaux (Bicudo et al., 2010; Reinertsen, 1996; Ruf & Geiser, 2015). À ce jour, chez les oiseaux, l'engoulement de Nuttall (*Phalaenoptilus nuttallii*) est la seule espèce connue à être capable, durant l'hiver, d'entrecouper de longues périodes de torpeur avec de courtes périodes d'activité, ce qui revient à hiberner (Brigham, 1992). Le taux métabolique pendant la torpeur ou l'hypothermie varie entre 4,4% et 96% du taux métabolique de base (BMR pour « *basal metabolic rate* »). Ainsi, l'économie d'énergie réalisée varie énormément entre les espèces (McKechnie & Lovegrove, 2002; Ruf & Geiser, 2015). Ces comportements sont régulés par des processus hormonaux et par une réduction de l'activité métabolique (McKechnie & Lovegrove, 2002; Ruf & Geiser, 2015).

D'autres stratégies permettant de limiter les pertes de chaleur consistent à utiliser des cavités faites par excavation dans les troncs d'arbres ou dans la neige pour se protéger des précipitations extérieures et réduire les pertes de chaleur (Cooper, 1999; Paclík & Weidinger, 2007). Les espèces utilisant cette stratégie profitent également de l'élévation de la température à l'intérieur de la cavité pour réduire les dépenses énergétiques liées à la thermorégulation (Walsberg, 1986). L'utilisation de micro-habitats, situés à l'abri du vent et/ou exposés au soleil,

permet également de réduire les pertes de chaleur par convection et d'augmenter le gain de chaleur par radiation (Marsh & Dawson, 1989; Scholander, Hock, Walters, & Irving, 1950). Enfin, le regroupement des individus, appelé thermorégulation sociale permet aussi de réduire les pertes de chaleur (Gilbert, 2006). Le grand volume formé par le regroupement d'individus diminue le ratio surface/volume collectif et réduit ainsi la surface corporelle exposée au froid (Gilbert et al., 2010). Tous ces comportements permettant de limiter les pertes de chaleur ne sont pas exclusifs les uns des autres et peuvent donc se cumuler.

### **I.3.1.2 Ajustements morphologiques**

D'un point de vue morphologique, les oiseaux peuvent limiter les pertes de chaleur en ajustant leur isolation thermique (Marsh & Dawson, 1989; Scholander, Walters, et al., 1950; Swanson, 1991a). Bien que le gras sous-cutané puisse jouer un rôle d'isolant thermique chez les vertébrés de grande taille, chez les passereaux, ce sont essentiellement les plumes qui jouent ce rôle.

Les propriétés isolantes des plumes chez les oiseaux dépendent principalement de leur densité et de leur capacité à emprisonner un grand volume d'air. C'est cet air une fois emprisonné dans les plumes qui joue le rôle d'isolant. Par exemple, la conductivité thermique de l'air est 140 fois plus basse que celle de l'eau qui représente une grande proportion de la masse corporelle. Des ajustements ponctuels, comme la mue automnale permettent la mise en place d'une isolation mieux adaptée aux conditions hivernales (Cooper, 2002). La piloérection peut aussi avoir lieu de façon temporaire (Hohtola, Rintamäki, & Hissa, 1980). Sous l'impulsion des muscles arrecteurs, les plumes se redressent afin d'emprisonner une plus grande quantité d'air, ce qui augmente rapidement l'isolation. Néanmoins, les oiseaux de petite taille comme les passereaux sont beaucoup moins isolés que les oiseaux de grande taille puisqu'il y a une limite physique au nombre de plumes par unité de surface (Calder & King, 1974).

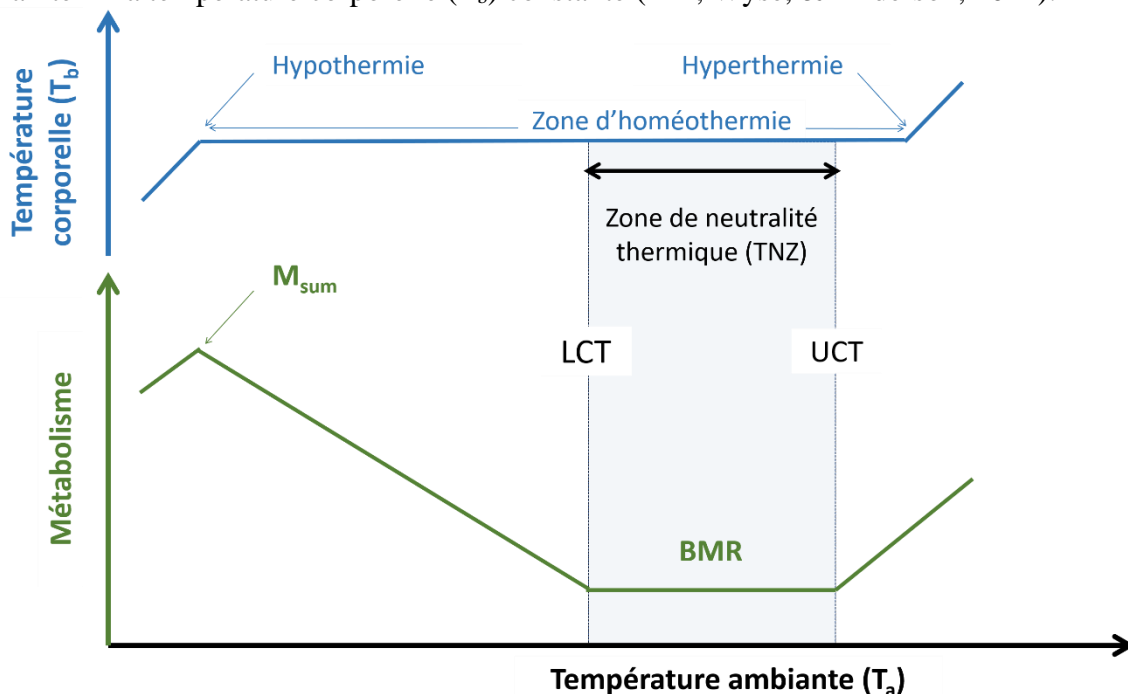
Enfin, les tissus périphériques (c.-à-d., extrémités des organismes : bec, pattes, etc.), en raison de leur ratio surface/volume élevé représentent des sources de pertes de chaleur importantes. Toutefois, en plus de pouvoir les cacher (p. ex., sous des plumes) pour limiter ces

perdes, l'anatomie complexe de ces tissus permet également de limiter les pertes de chaleur par vasoconstriction des vaisseaux sanguins (c.-à-d., réduction du flux sanguin). Ce processus réduit ainsi la différence de température entre le tissu périphérique et l'environnement, ce qui diminue les pertes de chaleur (Marsh & Dawson, 1989). Certaines espèces d'oiseaux marins sont aussi équipées de systèmes d'échangeurs thermiques à contre-courant qui permettent d'éviter le refroidissement du sang allant aux extrémités (Bicudo et al., 2010).

### I.3.2 Augmenter la production de chaleur

#### I.3.2.1 Thermorégulation

La zone de neutralité thermique (TNZ pour « *thermoneutral zone* ») correspond à la zone de températures ambiantes ( $T_a$ ) au sein de laquelle les endothermes sont soumis à des pertes de chaleur minimales ne demandant pas de travail métabolique supplémentaire pour maintenir la température corporelle ( $T_b$ ) constante (Hill, Wyse, & Anderson, 2012).



**Figure I.3** Influence de la température ambiante ( $T_a$ ) sur le métabolisme et la température corporelle ( $T_b$ ) d'un endotherme de petite taille. Dans la zone de neutralité thermique, le taux métabolique est constant, on peut y mesurer le métabolisme de base (BMR) d'un individu adulte, s'il est au repos et à jeun. Hors de la TNZ, le métabolisme augmente. Quand la température ambiante se refroidit, l'individu atteint sa capacité thermogénique maximale mesurable via son métabolisme maximal, le  $M_{sum}$ . À ce stade, l'individu entre en hypothermie et son métabolisme diminue. Adaptée de Willmer et al. (2005).

Cette zone est délimitée par les températures critiques inférieure (LCT pour « *lower critical temperature* ») et supérieure (UCT pour « *upper critical temperature* ») (Figure I.3). C'est dans cette zone que le **taux métabolique de base (BMR)** pour « *basal metabolic rate* ») (Daan, Masman, & Groenewold, 1990; McKechnie, 2008) peut être mesuré. Le BMR représente l'activité métabolique minimale d'un organisme nécessaire au maintien des fonctions physiologiques de base (p. ex., battements cardiaques, filtration rénale, etc.). Il ne prend pas en compte les dépenses énergétiques associées à la croissance, à la digestion, à la thermorégulation et à toutes autres activités journalières. Le BMR est donc considéré comme une mesure des coûts énergétiques pour la maintenance des fonctions physiologiques (Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017). Le BMR est généralement obtenu en mesurant les dépenses énergétiques chez des individus adultes, à jeun, à thermoneutralité et durant la phase inactive du cycle circadien. Chez beaucoup d'espèces aviaires, le BMR est plus élevé en hiver, lorsque les températures sont plus basses qu'en été (McKechnie, Noakes, & Smit, 2015). Il tend à augmenter progressivement en automne lorsque les températures déclinent (McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; McKechnie & Swanson, 2010; Petit, Lewden, & Vézina, 2013).

Lorsqu'un oiseau est exposé à des températures ambiantes inférieures à la TNZ et que les mécanismes passifs de réduction des pertes de chaleur sont insuffisants pour maintenir la température corporelle stable (p. ex., piloérection), les oiseaux vont alors augmenter la production active de chaleur par frissonnement afin de compenser les pertes. La thermogénèse par frissonnement est un processus énergétiquement coûteux associé à une augmentation du métabolisme au-dessus de BMR (Figure I.3) (Bush, Brown, & Downs, 2008; Cooper & Swanson, 1994; Piersma, Cadée, & Daan, 1995).

### **I.3.2.2 Thermogénèse par substitution**

Bien que toute activité physique ou physiologique (c.-à-d., locomotion, digestion) consomme de l'énergie, elle produit dans un même temps de la chaleur qui peut se substituer partiellement ou entièrement à la thermorégulation et participer ainsi au maintien de la température corporelle chez les endothermes. Ce phénomène est appelé thermorégulation par



substitution (Cooper & Sonsthagen, 2007; Webster & Weathers, 1990). Lorsque la production de chaleur dissipée par l'activité est égale ou supérieure à celle perdue dans l'environnement, cette chaleur contribue à la thermorégulation. Dans un tel cas, l'activité dans le froid n'entraînera pas de coût supplémentaire pour l'organisme.

### I.3.2.3 Thermogénèse par frissonnement

Chez les endothermes, la thermogénèse par frissonnement permet de produire de la chaleur et de maintenir la température corporelle stable en contrebalançant les pertes. Face à un stress thermique froid, le système nerveux somatique déclenche des contractions asynchrones et soutenues des muscles squelettiques antagonistes. Puisque les contractions sont involontaires, le frissonnement permet aux animaux de produire de la chaleur, sans générer de mouvement (Hohtola, 2004). Chez les oiseaux, la production de chaleur par frissonnement provient essentiellement des muscles pectoraux qui sont les plus grands muscles chez ces organismes (Calder & King, 1974). De plus, confrontés à des conditions froides continues, par exemple pendant la saison hivernale, il n'est pas rare que la **masse de leurs muscles** augmente afin de fournir une plus grande quantité de fibres musculaires participant au frissonnement, ce qui améliore la thermogénèse (Cooper, 2002; Liknes & Swanson, 2011; O'Connor, 1995; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Swanson & Merkord, 2012).

Comme la production de chaleur par frissonnement est associée à une augmentation du métabolisme, cela implique aussi une plus grande consommation d'oxygène. Ainsi, dans un contexte d'acclimatation au froid, lorsqu'un oiseau est exposé pendant un certain temps à des températures froides, la capacité de transport de l'oxygène dans le sang augmente. Dans la plupart des études, elle est mesurée par l'**hématocrite**, qui correspond au volume relatif de globules rouges comparé au volume de sang total (Fair, Whitaker, & Pearson, 2007; O'Connor, 1996; Petit & Vézina, 2014a; Swanson, 1990b). Dans un même temps, la structure du système circulatoire se développe davantage, ce qui implique un gain de taille des organes cardiopulmonaires comme le cœur et des poumons (Barceló, Love, & Vézina, 2017; Chappell, Bech, & Buttemer, 1999; Hammond et al., 2000; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Zheng et al., 2008).

En conditions expérimentales, lorsqu'un oiseau est exposé à des températures de plus en plus froides, celui-ci augmente sa production de chaleur par frissonnement pour compenser les pertes et maintenir la température corporelle. Si la température continue de décliner, l'animal atteint éventuellement un taux métabolique défini comme la **capacité thermogénique maximale** ( $M_{\text{sum}}$ , pour métabolisme du sommet ou « *Summit metabolic rate* », Figure I.3). Généralement, le  $M_{\text{sum}}$  est 3 à 8 fois plus élevé que le BMR (Swanson, 2010) et est considéré comme un indice de l'endurance au froid (Liknes & Swanson, 1996; McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; Swanson, 2001; Swanson & Liknes, 2006). Comme il s'agit d'une mesure de  $\dot{V}O_{2\text{max}}$  par frissonnement, dans un contexte où la température ambiante continue de diminuer passé ce point, la thermogénèse n'est plus suffisante pour compenser les pertes de chaleur et la température corporelle de l'oiseau décline jusqu'à atteindre l'hypothermie non contrôlée (Figure I.3). Cela se traduit par une baisse forcée du métabolisme pouvant mener à la mort. Le  $M_{\text{sum}}$  correspond donc au métabolisme maximal d'un individu exposé au froid (Marsh & Dawson, 1989) et est généralement atteint à des températures plus froides que celles rencontrées en nature. Cependant, parce que le  $M_{\text{sum}}$  est aussi corrélé à la tolérance de températures froides moins extrêmes, mais beaucoup plus complexes à mesurer (Swanson, 1990a, 2001; Swanson & Liknes, 2006), il est considéré comme un indice de la capacité thermogénique et est couramment utilisé dans les études sur la thermorégulation (McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; McKechnie & Swanson, 2010; Swanson et al., 2012) comme un indicateur de l'endurance au froid. Il s'agit d'une approche analogue à la mesure du  $\dot{V}O_{2\text{max}}$  chez les athlètes pour prédire l'endurance à la course de longue distance. Pour beaucoup d'espèces aviaires, dont celles résidant en zones tempérées, le  $M_{\text{sum}}$  est plus élevé en hiver lorsque les températures sont froides comparativement à l'été (McKechnie, Noakes, & Smit, 2015). Il tend à augmenter progressivement en automne au fur à mesure que les températures déclinent et culmine pendant les mois les plus froids (McKechnie & Swanson, 2010; Petit, Lewden, & Vézina, 2013; Swanson, 2010). La capacité de transport de l'oxygène et la masse des muscles sont généralement corrélées positivement au  $M_{\text{sum}}$  (Petit, Clavijo-Baquet, & Vézina, 2017; Petit & Vézina, 2014a; Swanson, 1990b).

### I.3.3 Augmenter les apports énergétiques

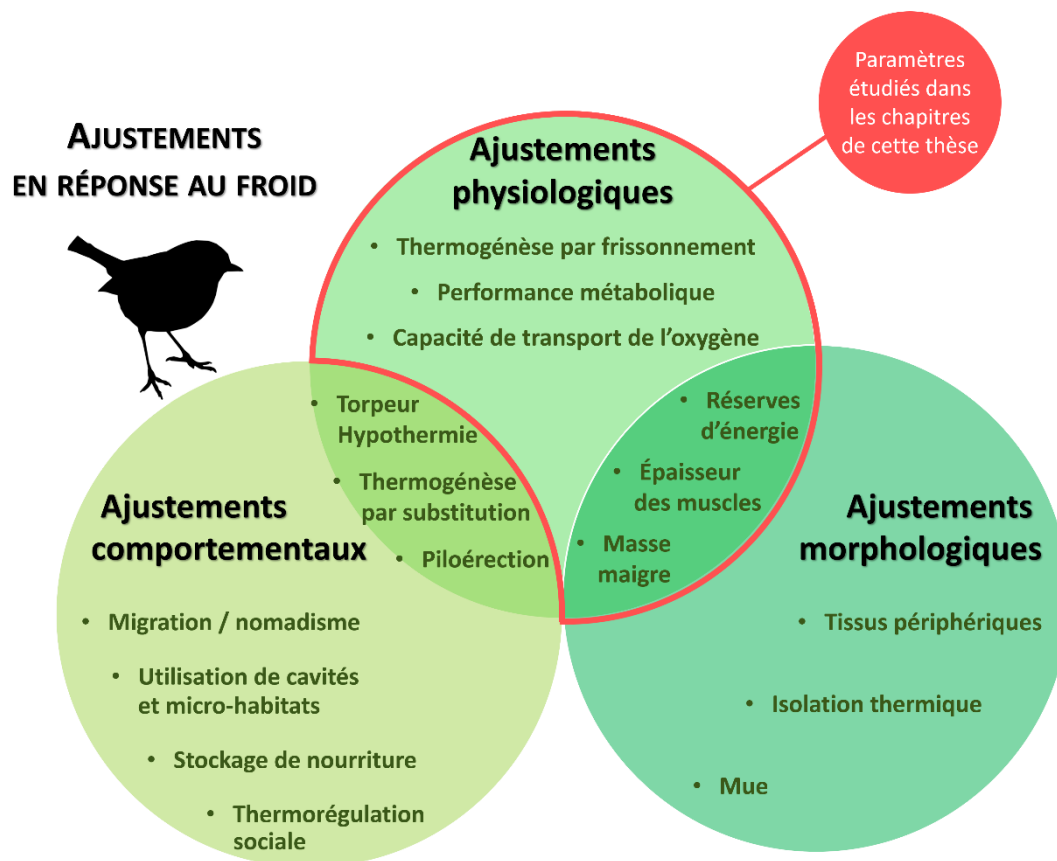
Comme nous venons de le constater, les oiseaux qui hivernent dans des régions froides sont confrontés à des demandes thermiques et énergétiques importantes (c.-à-d., longues périodes de jeûne nocturnes, production de chaleur importante, augmentation du métabolisme, recherche alimentaire). Bien que certains oiseaux soient capables d'anticiper la faible disponibilité des ressources alimentaires hivernales en stockant de la nourriture pendant l'été et l'automne comme les mésanges d'Europe (p. ex., mésange boréale (*Poecile montanus*), mésange charbonnière (*Parus major*) et mésange nonnette (*Poecile palustris*)) qui stockent jusqu'à 80 000 graines d'épicéa avant l'hiver (Haftorn, 1959), la majorité des espèces aviaires accumulent aussi des réserves endogènes.

L'accumulation de réserves endogènes est généralement associée à un accroissement de la **masse lipidique** (Blem, 1976; Cooper, 2007; Gosler, 1996; Lehtikoinen, 1987). Les réserves d'énergie sont donc nettement plus importantes en hiver qu'en été et culminent pendant les jours les plus courts (P. R. Evans, 1969; Laplante et al., 2019) et/ou les plus froids de l'hiver (Brooks, 1968; Dawson & Marsh, 1986; Evans, 1969; White & West, 1977). Par exemple, chez les chardonnerets jaunes (*Spinus tristis*) acclimatés à l'hiver, ces réserves peuvent atteindre jusqu'à 15% de la masse corporelle maigre (Carey et al., 1978). L'énergie stockée sous forme de lipides peut répondre aux besoins métaboliques d'un individu pendant le jeûne nocturne et fournit généralement une marge de sécurité de 24 à 36h supplémentaires (Blem, 1976; Gosler, 1996; Marsh & Dawson, 1989; O'Connor, 1995).

L'augmentation de la masse lipidique est associée à une augmentation de la prise alimentaire (Hart, 1962). Elle mène donc typiquement à une augmentation de la masse des organes digestifs et excréteurs (c.-à-d., foie, intestin, gésier, reins) (Barceló, Love, & Vézina, 2017; Petit, Lewden, & Vézina, 2014). L'augmentation de la masse des organes nutritionnels combinée à l'augmentation de la masse des organes cardiopulmonaires entraînent ainsi une hausse de la masse des tissus métaboliquement actifs, c'est-à-dire des **tissus maigres** qui, souvent, mène à une augmentation des coûts de maintenance physiologiques en période de repos

délectable par une hausse du BMR (McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; Petit, Lewden, & Vézina, 2013; Swanson, 2010).

En résumé, l'acclimatation au froid hivernal implique divers ajustements physiologiques, morphologiques et comportementaux que nous avons regroupés dans la Figure I.4. Les chapitres de cette étude portent essentiellement sur les ajustements physiologiques tels que la production maximale de chaleur par frissonnement ( $M_{sum}$ ), et les paramètres associés (masse des muscles pectoraux, hémocrite), le métabolisme de base (BMR) et les réserves d'énergie.



**Figure I.4** Ajustements physiologiques, morphologiques et comportementaux pouvant être mis en place lors de l'acclimatation au froid hivernal chez les espèces aviaires de petite taille. Les paramètres mesurés dans les différents chapitres de cette thèse sont représentés par le cercle rouge.

## I.4. MIGRATION

### I.4.1 Les stratégies de migration

Pendant la migration, la plupart des oiseaux migrateurs alternent entre des périodes de vol au cours desquelles les réserves de carburant s'épuisent, et des périodes de ravitaillement durant lesquelles les réserves sont reconstituées en s'alimentant. Le nombre et la durée de ces périodes de vol et de ravitaillement varient selon la stratégie migratoire adoptée (Newton, 2008). De manière générale, ces stratégies résultent d'un compromis basé sur (1) le type d'environnement dans lequel les individus se déplacent (c.-à-d., hospitalier ou inhospitalier), (2) la répartition des lieux d'alimentation potentiels (c.-à-d., haltes migratoires) et (3) les risques de prédation. Par conséquent, les oiseaux visent à minimiser à la fois la durée de la migration, l'énergie dépensée et la charge transportée (Newton, 2008).

Trois grandes stratégies migratoires ressortent chez les oiseaux qui migrent par étapes (Piersma, 1987). Premièrement, il y a la stratégie « *hop* » qui consiste à utiliser les nombreux sites de ravitaillement disponibles le long de la route migratoire. Les espèces qui migrent sur des terrains hospitaliers ont tendance à utiliser cette stratégie. Elles effectuent ainsi des vols courts (c.-à-d., quelques heures) entrecoupés de courtes périodes de repos et de recherche de nourriture, au cours desquelles elles peuvent remplacer les quantités relativement faibles de carburant utilisées lors du vol. Deuxièmement, il y a la stratégie « *skip* » qui vise également à utiliser de nombreux sites de ravitaillement, mais à ignorer ceux de mauvaise qualité. Dans ce contexte, les oiseaux font de grandes réserves de carburant dans un site d'escale de bonne qualité afin de contourner les sites d'escale de mauvaise qualité. Enfin, il y a la stratégie « *jump* » qui consiste à faire de grandes réserves de carburant pour voler de longues distances sans se nourrir. Les espèces qui migrent en zones inhospitalières ou qui traversent des barrières géographiques importantes (c.-à-d., déserts, océans, montagnes) ont tendance à utiliser cette stratégie. Elles effectuent généralement des vols continus de plusieurs jours voire une semaine qui les forcent à jeûner pendant la durée du vol tout en maintenant un niveau d'exercice particulièrement élevé. La barge rousse (*Limosa lapponica baueri*) par exemple, traverse chaque printemps l'océan Pacifique du sud au nord en migrant (~10 000

km) de la Nouvelle-Zélande à l'Alaska en seulement 6 à 9 jours (Battley et al., 2012; Gill et al., 2008). Lors de ce type de migration, les périodes de ravitaillement peuvent durer plusieurs semaines afin de refaire des réserves de carburant suffisantes pour la prochaine période de vol (Gill et al., 2008).

Ces stratégies ne sont pas exclusives les unes des autres, ainsi suivant la distance à parcourir et les sites de ravitaillement successifs, certaines espèces peuvent combiner une ou plusieurs de ces stratégies (Newton, 2008). Quelques espèces optent aussi pour des stratégies alternatives, comme la fauvette des jardins (*Sylvia borin*) ou encore le gobe-mouche noir (*Ficedula hypoleuca*) qui accumulent toujours plus de carburant qu'il n'en faut pour se rendre à la prochaine escale, ce qui entraîne une augmentation progressive de la masse lipidique (Schaub & Jenni, 2000a, 2000b). Cette stratégie fait en sorte que ces espèces ont assez de carburant au moment de traverser la barrière géographique (c.-à-d., désert du Sahara). Les conditions extérieures, telles que des conditions météorologiques défavorables et un approvisionnement alimentaire insuffisant peuvent également influencer les stratégies migratoires adoptées (Newton, 2008).

#### **I.4.2 Ajustements phénotypiques et métaboliques associés à la migration**

L'alternance des activités de ravitaillement et de vol impose des ajustements phénotypiques chez les oiseaux qui varient selon la stratégie migratoire employée et la distance de migration. Ces ajustements visent toujours à maximiser la prise alimentaire et l'efficacité du vol.

##### **I.4.2.1 Augmenter les apports énergétiques**

Pratiquement toutes les stratégies de migration impliquent le stockage et la mobilisation rapide des lipides. Ces lipides, stockés sous forme de triglycérides, sont utilisés comme principale source de carburant pour le vol, car ils fournissent jusqu'à 9 fois plus d'énergie par unité de masse que tout autre carburant disponible (lipides :  $\sim 37 \text{ kJ.g}^{-1}$ , protéines et glucides :  $\sim 4\text{-}5 \text{ kJ.g}^{-1}$ , Blem, 1990; Jenni & Jenni-Eiermann, 1998). De plus, ils peuvent être stockés sans eau ni protéines (Jenni & Jenni-Eiermann, 1998).

La plupart des passereaux migrateurs qui volent en zones hospitalières partent avec des réserves de carburant représentant 10 à 30% de leur masse corporelle maigre (Guglielmo, 2018; Newton, 2008). Pour les espèces qui effectuent de longs vols et/ou qui traversent des zones inhospitalières, ces réserves lipidiques peuvent représenter 40 à 70% de la masse maigre corporelle voire 150% chez certaines espèces qui s'appêtent à franchir une barrière géographique (Alerstam & Lindström, 1990; Moreau & Dolp, 1970; Newton, 2008). La masse lipidique accumulée change donc d'une espèce à l'autre en fonction de la distance à parcourir bien que d'autres facteurs comme la taille, le sexe, l'âge, la saison (c.-à-d., printemps, automne), la qualité de l'habitat et le risque de prédation soient aussi importants (Newton, 2008).

Bien que les réserves lipidiques des oiseaux migrateurs soient très importantes pour le vol, en transporter en excès peut être préjudiciable, car en plus d'augmenter les coûts d'entretien et de transport, les coûts énergétiques associés au vol peuvent décupler (Witter & Cuthill, 1993). Les performances de vol peuvent également être réduites, ce qui par conséquent augmente le risque de prédation (Burns & Ydenberg, 2002; Witter & Cuthill, 1993).

#### **I.4.2.2 Maximiser la prise alimentaire avant le vol**

En préparation à la migration, mais aussi pendant les périodes de ravitaillement, les oiseaux doivent être efficaces dans la prise alimentaire afin de stocker suffisamment de réserves d'énergie dans un court laps de temps. Cela implique de maximiser (1) le taux d'ingestion et (2) l'efficacité d'assimilation des nutriments.

Le taux d'ingestion représente la quantité de nourriture qui peut être consommée en 24h. Il peut varier selon la durée du jour, la disponibilité de la nourriture, l'efficacité de l'oiseau à s'alimenter ou encore la présence de concurrents (Newton, 2008). Dans le contexte de la migration, le taux d'ingestion peut être maximisé par un changement de comportement de la part de l'oiseau comme l'hyperphagie. Ainsi, en préparation à la migration, certains passereaux migrateurs peuvent manger jusqu'à 25-30% plus de nourriture par jour qu'en

temps normal, ce qui entraîne un gain de masse corporelle pouvant aller jusqu'à 10% par jour (King, 1961).

L'efficacité d'assimilation représente la quantité d'énergie absorbée par l'animal et disponible pour le métabolisme relativement à l'énergie ingérée. Elle peut être optimisée par un système digestif de grande taille qui permet de traiter des quantités de nourriture supérieures à la normale. En préparation à la migration ou pendant les périodes de ravitaillement, la période hyperphagique est d'ailleurs souvent associée à une augmentation de la masse des organes nutritionnels (c.-à-d., organes digestifs et excréteurs) comme l'intestin, le gésier, le foie et les reins (Bauchinger & McWilliams, 2010b; Piersma & Gill, 1998).

Certaines espèces peuvent également s'engraisser en vue de la migration sans hypertrophie intestinale. Dans ce contexte, les oiseaux pourraient procéder à des ajustements comportementaux, tels que réduire leur temps d'activité ou allonger la période d'alimentation quotidienne sans augmenter la quantité de nourriture ingérée (Guglielmo, 2018). Ils pourraient aussi augmenter le temps de rétention de la nourriture (Hume & Biebach, 1996) ou améliorer les mécanismes d'assimilation des nutriments (Karasov & Pinshow, 1998) afin d'augmenter l'efficacité d'assimilation de ces nutriments (p. ex., les lipides) (Bairlein, 1985).

#### **1.4.2.3 Maximiser l'efficacité de vol et limiter les dépenses d'énergie**

Pendant le vol, c'est la machinerie liée à l'exercice et à l'endurance aérobie qui prédomine. Cela implique l'action soutenue des muscles du vol ainsi que des systèmes cardiopulmonaire et circulatoire. Ainsi, en préparation à la migration (Battley & Piersma, 1997; Dietz, Piersma, & Dekinga, 1999; R. D. Evans et al., 1992; Jehl, 1997; Piersma, Gudmundsson, & Lilliendahl, 1999) ou pendant le vol (Guglielmo et al., 2002), les oiseaux migrateurs présentent généralement des muscles pectoraux (Bauchinger, Wohlmann, & Biebach, 2005; Guglielmo & Williams, 2003; Marsh, 1984; Piersma & van Gils, 2011), un cœur et des poumons plus développés (Bauchinger, Wohlmann, & Biebach, 2005; Guglielmo & Williams, 2003; Piersma & van Gils, 2011), ainsi qu'une capacité augmentée du transport



de l'oxygène dans le sang (hématocrite) (Driedzic et al., 1993; Fry, Ferguson-Lees, & Dowsett, 1972; Jehl, 1997; Piersma & Gill, 1998).

Bien que le développement des muscles du vol ainsi que des organes nutritionnels et cardiopulmonaires soit utile pour maximiser la prise alimentaire et l'efficacité du vol, la maintenance physiologique de ces organes est coûteuse énergétiquement. Ainsi, certains oiseaux migrateurs, notamment ceux qui effectuent de longs vols sans escale, réduisent la taille de certains de leurs organes digestifs en seulement quelques jours avant le vol (Gaunt et al., 1990; Lindström & Piersma, 1993). La réduction de la masse des organes permet dans un même temps de réduire la masse corporelle totale et donc la charge alaire. De manière générale, Biebach & Bauchinger (2003) rapportent que la réduction de la taille des organes avant un vol permettrait aux fauvettes des jardins d'économiser environ un cinquième de l'énergie nécessaire pour le même vol effectué sans réduction de la masse des organes.

Par ailleurs, pendant le vol, la majeure partie de la masse maigre catabolisée provient des organes digestifs dont les taux de renouvellement des protéines (c.-à-d., *turnover*) sont généralement plus élevés que ceux des muscles (Battley et al., 2000; Bauchinger & McWilliams, 2009; Bauchinger, Wohlmann, & Biebach, 2005). Cette dégradation des tissus contribue dans un même temps aux besoins en carburant et en eau de l'oiseau. De manière générale, les lipides fournissent ~90% de l'énergie pour les vols longue distance tandis que les protéines en fournissent ~10% (Jenni & Jenni-Eiermann, 1998; McWilliams et al., 2004).

Enfin, bien que les raisons ne soient pas encore très claires (Jenni et al., 2006), quelques études rapportent également une diminution de l'hématocrite pendant le vol (Bairlein & Totzke, 1992; Landys-Ciannelli, Jukema, & Piersma, 2002; Piersma, Everaarts, & Jukema, 1996).

#### **1.4.5 Conséquences des ajustements phénotypiques sur le métabolisme**

Les ajustements phénotypiques associés à l'exercice et à la capacité d'endurance aérobie permettent d'améliorer l'endurance à l'effort des oiseaux, que l'on peut mesurer par le taux métabolique maximal en exercice (MMR pour « *maximum metabolic rate* »

(Chappell, Bech, & Buttemer, 1999; Klaassen, Kvist, & Lindström, 2000; Piersma, 2011). Ainsi, lors d'un vol migratoire, les oiseaux utilisent entre 70 et 90% de leur taux maximal de consommation d'oxygène ( $\dot{V}_{O_{2max}}$ ), ce qui est similaire, en termes relatifs, à un marathonien d'élite humain (Guglielmo et al., 2002). En comparaison avec les mammifères, la consommation d'oxygène d'un oiseau en vol correspond à environ deux fois le  $\dot{V}O_2$  max d'un mammifère de la même masse qui court (p. ex., un moineau par rapport à une souris). Cela est dû au fait que les coûts mécaniques associés à la portance et la poussée en vol, même à la vitesse minimale, sont très importants (Butler & Woakes, 1990). Le type de vol, par ailleurs, peut influencer le taux métabolique. Par exemple le vol plané est relativement peu coûteux (Hedenstrom, 1993), tandis que le vol battu nécessite une dépense énergétique qui peut aller jusqu'à 12 fois le BMR chez la plupart des oiseaux (Guglielmo, 2018).

L'augmentation de la masse des muscles du vol, des organes nutritionnels ainsi que des organes cardiopulmonaires en préparation à la migration entraîne une augmentation de la masse des tissus métaboliquement actifs. Or, ces organes qui contribuent à la masse maigre ont un coût énergétique de maintenance élevé (Burton et al., 2011). Par conséquent, lorsque leur masse augmente, le taux métabolique basal (BMR) tend à augmenter de manière proportionnelle (Careau et al., 2014; Swanson, 2010; Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017). À l'inverse lorsqu'il y a dégradation de ces tissus métaboliquement actifs, le BMR tend à diminuer (Careau et al., 2014; Swanson, 2010; Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017). Battley et al. (2001) rapportent notamment une diminution de 40% de la masse corporelle des bécasseaux de l'Anadyr (*Calidris tenuirostris*) après 5400 km de vol continu associée à un déclin de 42% du BMR.

Bien que les réserves lipidiques soient généralement considérées comme des tissus faiblement actifs d'un point de vue métabolique (Jenni & Jenni-Eiermann, 1998), l'accumulation de réserves augmentera néanmoins les coûts de vol par unité de distance parcourue. Cela s'explique par le fait que le carburant nécessite de l'énergie pour être synthétisé, entretenu et transporté (Lindström & Alerstam, 1992; Pennycuick, 1975; Witter & Cuthill, 1993).

## **I.5 REPRODUCTION**

En période de reproduction, plusieurs espèces montrent des ajustements comportementaux et physiologiques. Certains de ces ajustements peuvent permettre de compenser les coûts énergétiques associés à l'investissement reproducteur.

### **I.5.1 Régulation endocrine et recrudescence des organes reproducteurs**

La majorité des espèces aviaires se reproduisent sur une base saisonnière. Cette période implique un développement complet du système reproducteur puisqu'en dehors de la période de reproduction, les organes reproducteurs sont généralement atrophiés (Williams, 2012, 2018). Chez la plupart des espèces qui vivent dans les environnements saisonniers, il est crucial de faire coïncider l'effort reproducteur (c.-à-d., approvisionnement des oisillons) avec le pic d'abondance de nourriture pour maximiser le succès de reproduction (Perrins, 1996; Williams, 2012, 2018). Ainsi, afin de synchroniser l'approvisionnement des oisillons avec les conditions environnementales les plus favorables, les adultes doivent commencer à ajuster leur phénotype bien avant le pic d'abondance des ressources même si les conditions environnementales peuvent être sous-optimales en termes de disponibilité de nutriments et d'énergie (Perrins, 1996). La plupart des ajustements phénotypiques associés à la reproduction débutent en réponse à l'augmentation de la durée du jour au printemps (McWilliams, Adkins-Regan, & Vleck, 2016). Ce signal active l'axe hypothalamo-pituitogonadique (HPG) et stimule la production et la sécrétion d'hormones sexuelles qui déclenchent la croissance et le développement des organes reproducteurs, des caractères sexuels secondaires et du comportement reproducteur (McWilliams, Adkins-Regan, & Vleck, 2016; Williams, 2018). Une fois que le phénotype reproducteur des mâles est arrivé à maturité, ces derniers peuvent entamer l'établissement et la défense de territoires (Edwards, Bernard, & Healy, 2018; Williams, 2012). Le développement du phénotype reproducteur des femelles quant à lui peut être décalé par rapport à celui des mâles, surtout si les femelles arrivent sur les territoires de reproduction après les mâles (Kokko et al., 2006). Ainsi ce n'est qu'une fois que les deux sexes sont prêts pour la reproduction que l'appariement peut se faire

suivi de la construction du nid, l'ovulation, la ponte, l'incubation et l'approvisionnement des oisillons (Edwards, Bernard, & Healy, 2018; Williams, 2012).

En préparation à la reproduction, la taille de l'oviducte des femelles augmente de 5 à 220 fois par rapport au stade non reproducteur tandis que la taille des ovaires augmente de 4 à 75 fois (Vézina & Salvante, 2010). Combinées, ces augmentations représentent jusqu'à 8.6 % de la masse corporelle non reproductrice (masse totale moins la masse des organes reproducteurs) (Vézina & Salvante, 2010). Chez les femelles, le processus de recrudescence des organes reproducteurs peut être plus ou moins rapide. Il peut prendre de 4 à 25 jours selon les espèces et a lieu en simultané avec le développement du vitellus qui précède l'ovulation du premier follicule ovarien qui formera le « jaune d'œuf » (Houston, Donnan, & Jones, 1995a; Mason, Barboza, & Ward, 2007; Réhault-Godbert & Guyot, 2018; Vézina & Salvante, 2010; Wingfield & Farner, 1978). Les femelles ayant plus d'une couvée par saison ont de plus la capacité d'alterner recrudescence et régression des organes reproducteurs entre chaque tentative de reproduction afin de limiter les coûts énergétiques associés au maintien et au transport de ces organes (Vézina & Williams, 2003; Williams & Ames, 2004).

Chez les mâles, les testicules peuvent augmenter en taille jusqu'à 480 fois par rapport à la période non reproductrice et représenter jusqu'à 1.5% de la masse corporelle non reproductrice (Vézina & Salvante, 2010). Comparativement aux femelles, le processus de recrudescence des organes est lent puisqu'il peut prendre jusqu'à 8 semaines selon les conditions environnementales (Vézina & Salvante, 2010), c'est pourquoi ce processus peut commencer dès l'allongement de la durée du jour (c.-à-d., dès l'hiver). D'ailleurs chez les espèces migratrices les gonades mâles sont typiquement en développement pendant la migration (Caro et al., 2006; Hegner & Wingfield, 1986; Raess & Gwinner, 2005; Ramenofsky & Wingfield, 2006; Vézina & Salvante, 2010; Wikelski et al., 2003). Les mâles peuvent également maintenir des organes reproducteurs développés plus longtemps que les femelles (jusqu'à 7 mois, Small et al., 2007), cependant, cela diffère considérablement selon les espèces, le statut social et les stratégies de reproduction (Lovette & Fitzpatrick, 2016).

### I.5.2 Coûts métaboliques de l'investissement reproducteur

Plusieurs études ont démontré que la production d'œufs chez les femelles est associée à un coût énergétique important (Chappell, Bech, & Buttemer, 1999; Nilsson & Råberg, 2001; Vézina & Williams, 2002, 2005b). Ce coût énergétique peut être estimé grâce à des mesures de taux métabolique au repos (RMR pour « *Resting Metabolic Rate* »), qui est essentiellement la même mesure que le BMR à l'exception que les individus sont mesurés pendant la production des œufs. En compilant l'ensemble des données disponibles, Vézina & Salvante (2010) rapportent que le RMR augmente progressivement pendant le développement rapide du vitellus et la croissance des organes reproducteurs, puis tend à culminer lorsqu'un œuf est complètement développé dans l'oviducte. Ainsi, les femelles qui produisent activement des œufs ont une dépense énergétique de repos de 22 % à 27 % supérieure aux coûts de maintenance en période non reproductive (Vézina & Salvante, 2010). Bien que les causes exactes de l'augmentation du taux métabolique pendant la formation des œufs ne soient pas encore claires, la variation de la masse de l'oviducte (organe responsable de la formation de l'albumen et de la coquille de l'œuf) pourrait expliquer jusqu'à 30% de la variation du RMR chez les moineaux domestiques (*Passer domesticus*) (Chappell, Bech, & Buttemer, 1999).

Les coûts de production des œufs chez les femelles ne sont pas sans conséquence. En période de production d'œufs et notamment lors du développement rapide du vitellus, des études expérimentales ont démontré que pour compenser les coûts de la reproduction, les femelles peuvent réduire leur activité locomotrice de 40 à 65% (Ettinger & King, 1980; Houston, Donnan, & Jones, 1995a; Salvante, Vézina, & Williams, 2010; Vézina, Speakman, & Williams, 2006; Williams & Ternan, 1999; Williams, Vézina, & Speakman, 2009). En parallèle, elles peuvent également augmenter leur temps de repos (Tome, 1991) sans aucun changement dans la prise alimentaire (Houston, Donnan, & Jones, 1995a; Salvante, Vézina, & Williams, 2010; Vézina, Speakman, & Williams, 2006; Williams & Ternan, 1999). Ces résultats ont cependant été observés chez des oiseaux captifs avec de la nourriture *ad libitum*.

En conditions naturelles, la quête alimentaire pourrait être incompatible avec une réduction de l'activité locomotrice.

Comparativement aux femelles, très peu d'études se sont intéressées à l'effet de la taille des gonades sur l'énergétique des mâles. Seul, Chappell et al. (1999) ont rapporté une corrélation significative entre le RMR et la masse des gonades chez les moineaux domestiques reproducteurs. Ainsi, les mâles ayant de gros testicules avaient un RMR 29% plus élevé comparativement aux mâles non reproducteurs. Bien que cette étude semble démontrer que l'effet de la taille des gonades sur le métabolisme est similaire à l'investissement énergétique maximal mesuré chez les femelles, d'autres activités associées à la reproduction (p. ex., chant, parade nuptiale, défense de territoire) pourraient également générer des changements physiologiques associés à une augmentation des coûts de maintenance physiologique chez les mâles à cette période. Cependant, le coût de ces activités n'a pas encore été très étudié.

### **I.5.3 Transformations liées à l'effort reproducteur**

En période de reproduction, plusieurs études rapportent que les femelles ont tendance à gagner de la masse corporelle avant la ponte des œufs, à la maintenir pendant l'incubation et à la perdre pendant la période nourrissage des oisillons (p. ex., Merkle & Barclay, 1996; Moe et al., 2002). Les mâles montrent un patron similaire. De manière générale, la période de nourrissage est considérée comme une des périodes les plus exigeantes d'un point de vue énergétique pour les oiseaux (Piersma, 2011). Ainsi, il est possible que le déclin de masse observé pendant le nourrissage soit la conséquence d'un budget énergétique négatif (Merkle & Barclay, 1996). En effet, l'augmentation des dépenses associée aux allers-retours entre les sites de nourrissage et le nid forcerait les adultes à puiser dans leurs réserves (Askenmo, 1977; Drent & Daan, 1980; Martins & Wright, 1993), ce qui réduirait ainsi leur masse corporelle. Une hypothèse alternative suggère que le déclin de masse pourrait également refléter une réponse adaptative permettant de réduire le coût du vol et ainsi améliorer les performances de vol (Norberg, 1981; Utter & LeFebvre, 1970).

Plusieurs études ont démontré un déclin de la capacité de transport de l'oxygène, mesurée par l'hématocrite chez les oiseaux en période de reproduction, notamment chez les femelles avant la ponte des œufs, c'est à dire entre l'arrivée sur l'aire de reproduction et la production des œufs (Morton, 1994; Silverin, 1981; Williams et al., 2004). Ensuite, les valeurs d'hématocrite présentent typiquement une hausse pendant la période de nourrissage des oisillons (Morton, 1994; Silverin, 1981; Williams et al., 2004). Les causes de variations de l'hématocrite en période de reproduction peuvent en fait être multiples. Par exemple, certaines hormones ont des effets connus, comme les androgènes qui stimulent et les œstrogènes qui inhibent la synthèse des érythrocytes (Rehder & Bird, 1983). L'augmentation du volume de plasma associée à la production des œufs serait aussi une des causes du déclin d'hématocrite observé chez les femelles (Fair, Whitaker, & Pearson, 2007; Krause, Németh, et al., 2016; Morton, 1994; Williams et al., 2004). Chez les mâles, des taux élevés de testostérones semblent être positivement corrélés au taux d'hématocrite (Buttemer & Astheimer, 2000).

Un déclin de la masse des muscles du vol et du cœur a aussi été observé chez plusieurs espèces pendant la ponte (Fogden & Fogden, 1979; Houston, Donnan, & Jones, 1995a; Williams & Martyniuk, 2000). Les diamants mandarins (*Taeniopygia guttata*) par exemple peuvent perdre jusqu'à 14% de leurs muscles pectoraux en période de ponte (Houston et al., 1995). Ce déclin résulterait de l'incorporation des protéines musculaires dans les œufs (Houston, Donnan, & Jones, 1995b).

## **I.6 PARTICULARITÉ DES ESPÈCES NORDIQUES : CONNAISSANCES ACTUELLES ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE**

Bien que les ajustements phénotypiques associés à l'hiver, la migration et la reproduction soient étudiés depuis plusieurs décennies, les études sont souvent menées en parallèle et sur des espèces aviaires représentatives des endroits où vivent les chercheurs (p. ex., hémisphère Nord pour les conditions hivernales froides). Cependant, certaines études dont celles qui portent sur les effets reportés (p. ex., Harrison et al. 2011) constituent des évidences que des liens importants existent entre ces stades d'histoire de vie et que les contraintes rencontrées à un stade peuvent avoir des conséquences à un stade subséquent. Ainsi, bien que les patrons d'ajustements phénotypiques soient de plus en plus acceptés (malgré le biais géographique des études), il est possible que des espèces aviaires « atypiques » en raison de leur distribution ou leur milieu de vie (p. ex. déserts ou environnements arides, régions polaires, hautes altitudes) présentent des patrons d'ajustements différents. Cependant, à l'exception de Ramenofsky & Wingfield (2006, 2017) et Wingfield et al. (2011a), très peu d'études se sont intéressées à ces espèces. Il est donc essentiel d'élargir la connaissance afin de couvrir d'autres systèmes et modèles. Ce besoin est d'autant plus urgent que les espèces qui vivent dans des milieux considérés extrêmes sont de plus en plus affectées par les changements globaux. Par exemple, le réchauffement rapide de l'Arctique est connu pour entraîner la perte d'habitats (Gilg et al. 2016), des changements phénologiques (Moe et al. 2009) et une augmentation du risque de prédation (Smith et al., 2010). Ainsi augmenter notre niveau de connaissance sur les contraintes et réponses de ces espèces face aux variations environnementales est une nécessité.

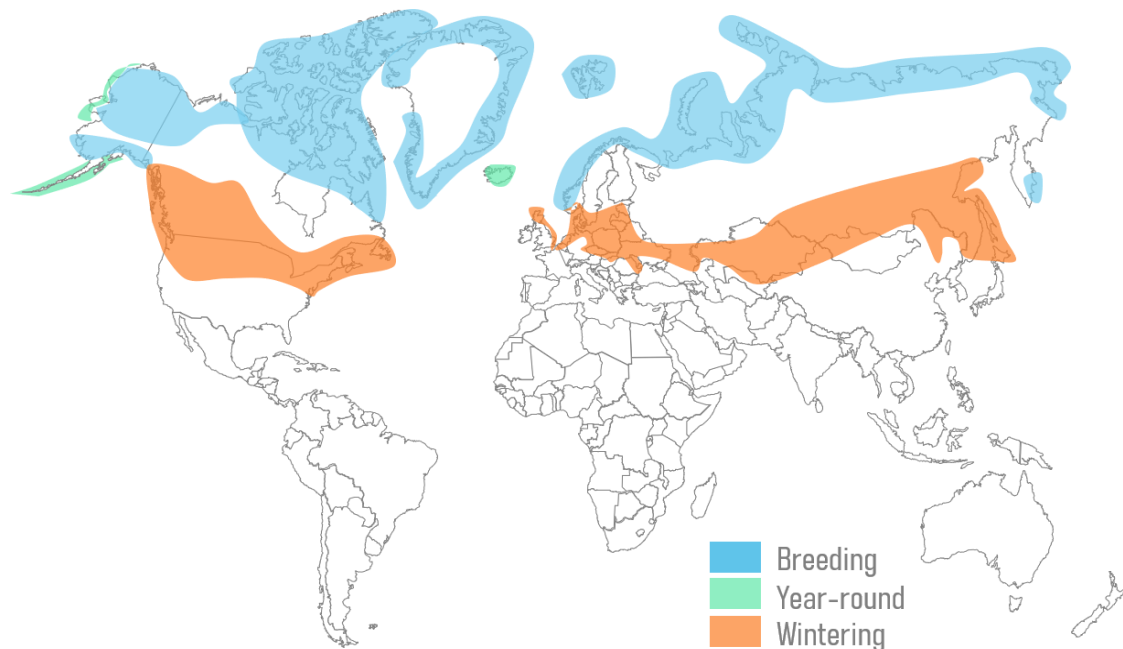
Comparativement aux espèces tempérées typiquement étudiées (McKechnie, 2008; McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; McKechnie & Swanson, 2010), les espèces nordiques représentent certainement des modèles d'études « atypiques ». Les espèces nordiques désignent ici les espèces qui résident à l'année en haute latitude (p. ex., Arctique), ou qui passent l'hiver dans des environnements froids (p. ex., zones tempérées) puis migrent au printemps vers des sites de reproduction plus au Nord (p. ex., Arctique). Ces espèces sont confrontées la majeure partie de l'année à des températures inférieures au point de



congélation et à d'importantes couvertures de neige pouvant bloquer l'accès aux ressources alimentaires.

### I.6.1 Choix du plectrophane des neiges comme modèle d'étude

Pour cette étude, nous avons choisi d'utiliser le plectrophane des neiges (*Plectrophenax nivalis*) comme modèle d'étude. Il s'agit d'un passereau migrateur (30-50 g) à distribution circumpolaire qui se reproduit dans les régions arctiques et hiverne dans les milieux ouverts et enneigés d'Amérique du Nord (Figure I.5), d'Europe et d'Asie entre les latitudes 40° et 60° Nord (Banks et al., 1991; BirdLife International, 2021; Montgomerie & Lyon, 2020; Snell et al., 2018; Yesou, 1998). De par son cycle annuel, le plectrophane est certainement une espèce nordique « atypique » comparativement aux modèles d'études traditionnels. Le plectrophane reste en effet associé à des conditions environnementales froides et enneigées la majeure partie de l'année (Montgomerie & Lyon, 2020; Snell et al., 2018), ce qui le distingue des espèces régulièrement étudiées qui sont typiquement exposées à des variations thermiques saisonnières de bien plus grandes amplitudes (p. ex., -25 à 30°C



**Figure I.5** Carte de distribution annuelle du plectrophane des neiges en Amérique du nord. © BirdLife International (2021) and Montgomerie & Lyon, 2020

chez la mésange à tête noire (*Poecile atricapillus*) en zone tempérée, Petit et al., 2013). Le comportement des plectrophanes depuis l'arrivée sur les aires de reproduction jusqu'à l'envol des oisillons a bien été décrit jusqu'à maintenant (Montgomerie & Lyon, 2020; Tinbergen, 1939) tout comme la phénologie de la reproduction (Lyon & Montgomerie, 1985; Meltofte, 1983; Smith, 1994; Wingfield et al., 2011), néanmoins il s'agit d'études qui n'ont pas examiné les mécanismes physiologiques sous-jacents aux comportements observés. Bien que l'espèce soit considérée comme spécialiste des environnements froids depuis plus de 60 ans (Scholander, Hock, Walters, & Irving, 1950; Scholander, Walters, et al., 1950), étonnamment, une seule étude a investigué les mécanismes physiologiques potentiellement impliqués depuis (Dubois, Hallot, & Vézina, 2016).

En plus d'être confronté à des conditions froides et imprévisibles plus de 50% de son cycle annuel, le plectropane des neiges est l'un des rares passereaux à migrer chaque printemps vers les latitudes arctiques en faisant face à un environnement froid. Les réponses physiologiques liées au chevauchement de l'acclimatation thermique et de la migration n'ont encore jamais été étudiées. Il s'agit donc d'une espèce idéale pour examiner les ajustements phénotypiques dans cette période doublement contraignante. Une étude antérieure (Vincent & Bédard, 1976) confirme de plus que l'espèce maintient son cycle annuel de variation phénotypique en captivité, avec une augmentation importante de la masse corporelle pendant la période de migration printanière, ce qui rend possible l'étude de séries temporelles à l'échelle de l'individu en conditions semi-contrôlées (volières). Enfin, nos recherches à Alert au Nunavut (82°N) permettent, non seulement de comparer le phénotype hivernal d'oiseaux capturés en hiver près de Rimouski à celui d'individus mesurés sur l'aire de reproduction arctique, mais aussi d'obtenir des données inédites sur la physiologie de cette espèce pendant une période peu étudiée, mais pourtant importante de transition entre la migration et la reproduction.

L'objectif principal de cette étude est donc de détailler les patrons d'ajustements phénotypiques mis en place par le plectropane des neiges pendant trois stades d'histoire de vie clés du cycle annuel (hiver, migration, reproduction) et de comprendre les mécanismes

sous-jacents à ces ajustements. Cette étude permettra de mettre en lumière la complémentarité ou les différences spécifiques à cette espèce dans le contexte des connaissances les plus récentes sur les adaptations physiologiques des oiseaux en périodes de demandes énergétiques accrues.

### **I.6.2 Le plectrophane des neiges s'acclimate-t-il à l'hiver comme les espèces résidentes des zones tempérées ?**

L'acclimatation hivernale chez les passereaux est étudiée depuis les années 1950 (Scholander, Hock, Walters, & Irving, 1950; Scholander, Walters, et al., 1950). La plupart des études se sont longtemps intéressées uniquement aux variations inter-saisonniers (hiver versus été) des paramètres physiologiques tels que le taux métabolique de base (BMR) et la capacité thermogénique maximale ( $M_{sum}$ ) (Cooper, 2002; Cooper & Swanson, 1994; Liknes & Swanson, 1996; McKechnie, 2008; McKechnie, Noakes, & Smit, 2015). Plus récemment, de nouvelles études se sont penchées sur les patrons saisonniers d'ajustement du phénotype à une échelle temporelle plus fine (Broggi et al., 2007; Petit, Lewden, & Vézina, 2013; Swanson & Olmstead, 1999). Ces études ont notamment démontré une augmentation graduelle de la performance métabolique parallèlement au déclin de la température automnale (c.-à-d., norme de réaction) de même que l'atteinte d'un seuil de performance passé un certain niveau de froid (Petit & Vézina, 2014b). D'autres études ont mis en évidence les mécanismes physiologiques sous-jacents comme la variation de la masse des muscles, des organes nutritionnels et cardiopulmonaires (Barceló, Love, & Vézina, 2017; Liknes & Swanson, 2011; Petit, Lewden, & Vézina, 2013, 2014; Swanson, 2010; Zheng et al., 2008). Néanmoins, la majorité de ces études portent sur des espèces, souvent résidentes, confrontées à de grandes variations saisonnières de température (p. ex., Juncos ardoisés (*Junco hyemalis*), bruants hudsoniens (*Spizella arborea*), Swanson & Olmstead, 1999, mésange charbonnière (*Parus major*), Broggi et al., 2007, mésange à tête noire (*Poecile atricapillus*), Petit et al., 2013). Les espèces nordiques en revanche restent encore très peu étudiées.

Comme les oiseaux qui vivent la majeure partie de l'année dans des environnements froids (définis après comme les espèces nordiques) sont confrontés à des étés courts,

relativement froids et avec des températures variables (Martin & Wiebe, 2004), il est très probable que les ajustements phénotypiques entre l'été et l'hiver soient moins prononcés que ceux observés chez les espèces résidentes des zones tempérées. Les quelques études menées sur des espèces nordiques vivant toute l'année à des latitudes supérieures à 60°N montrent en effet peu ou pas de variations de la performance métabolique entre l'hiver et l'été (mésange à tête noire, Sharbaugh, 2001, mésange boréale (*Poecile montanus*), Reinertsen & Haftorn, 1983). Ainsi, nous pouvons faire **l'hypothèse que contrairement aux espèces exposées à de grandes variations de températures saisonnières, chez les espèces confrontées au froid la majeure partie de l'année, la flexibilité phénotypique associée à l'endurance au froid est limitée et les patrons d'ajustements phénotypiques sont moins prononcés.**

Dans le *chapitre 1*, nous avons étudié durant 5 années consécutives, les ajustements phénotypiques hivernaux d'une population captive de plectrophanes des neiges maintenue toute l'année à l'extérieur en zone tempérée et donc exposée à de grandes variations saisonnières de température. Plus particulièrement, nous avons mesuré sur une base régulière la performance métabolique (BMR,  $M_{sum}$ , endurance et tolérance au froid) ainsi que les paramètres physiologiques sous-jacents comme la composition corporelle (masse corporelle, maigre et lipidique, épaisseur des muscles pectoraux) et la capacité de transport de l'oxygène (hématocrite). **Les objectifs spécifiques étaient 1) de détailler les patrons d'ajustements phénotypiques hivernaux d'une espèce nordique et 2) d'établir dans quelle mesure ces patrons sont comparables à ceux des espèces résidentes des zones tempérées.** Ainsi, si la flexibilité des traits associés à l'endurance au froid est un attribut commun aux oiseaux, indépendamment des variations de température dans leurs habitats, nous nous attendions à ce que les plectrophanes expriment les mêmes ajustements phénotypiques d'acclimatation au froid que les espèces résidentes en zones tempérées (c.-à-d., augmentation de la performance métabolique et de la composition corporelle). Alternativement, si la vie dans un froid quasi constant est associée à une flexibilité limitée des traits d'endurance au froid, nous nous attendions à ce que les plectrophanes montrent peu de variation phénotypique entre l'été et le

pic de l'hiver. Dans ce cas, nous nous attendions à ce qu'ils conservent une endurance au froid de niveau hivernal tout au long de la période étudiée.

### **I.6.3 Le plectrophane des neiges bénéficie-t-il des ajustements de l'acclimatation au froid hivernal pour migrer vers les régions arctiques ?**

Une des particularités de certains passereaux qui se reproduisent en Arctique est qu'ils entament une migration relativement tôt au printemps afin d'arriver rapidement sur les aires de reproduction (Ramenofsky & Wingfield, 2017). Pour ces espèces, cette arrivée hâtive permet d'établir des territoires et de former des couples rapidement, afin de nicher dès que les conditions deviennent propices à la reproduction (Ramenofsky & Wingfield, 2006). Cependant, à leur arrivée dans l'Arctique, ces espèces sont souvent confrontées à des conditions environnementales contraignantes (c.-à-d., températures négatives, tempêtes, couverture de neige), qui peuvent perdurer plusieurs semaines (Moltofte, 1983; Morrison, Davidson, & Wilson, 2007; Walsh, Shapiro, & Shy, 2005; Wingfield, Kelley, & Angelier, 2011). Ces oiseaux peuvent aussi être confrontés à des conditions hivernales imprévisibles en pleine activité de reproduction estivale (Moltofte, 1983). Par conséquent, les espèces qui se reproduisent en Arctique et hivernent en zones tempérées sont confrontées à des conditions hivernales pendant tout l'hiver, mais aussi pendant la migration printanière jusqu'à leur arrivée sur les sites de reproduction. L'environnement thermique froid ajoute donc une exigence supplémentaire à la migration, déjà connue comme une période contraignante du point de vue énergétique et physiologique (Chappell, Bech, & Buttemer, 1999; Guglielmo, 2018; Klaassen, Kvist, & Lindström, 2000; Piersma, 2011). Cependant, à notre connaissance, les ajustements physiologiques spécifiques aux espèces nordiques pendant cette période de transition particulière n'ont jamais été étudiés en détail. En effet, jusqu'à maintenant les patrons d'ajustements phénotypiques associés à la migration sont essentiellement documentés chez des espèces qui hivernent en zones tropicales ou tempérées plus clémentes (p. ex., Swanson, 1995; Swanson & Dean, 1999).

Bien que quelques études décrivent les routes migratoires empruntées par les plectrophanes de neiges (McKinnon et al., 2019; Snell et al., 2018), à notre connaissance, les

patrons d'ajustements phénotypiques liés à la migration n'ont pas encore été détaillés pour cette espèce. Or, de manière générale, chez les oiseaux, les ajustements phénotypiques associés à l'acclimatation hivernale et à la préparation à la migration sont très similaires (Dawson et al., 1983). Par exemple, on note une augmentation des réserves de gras, de la masse des muscles pectoraux et de la capacité de transport de l'oxygène dans les deux cas (p. ex., Chilgren, 1977; Dawson et al., 1983; Battley & Piersma, 1997; Dietz et al., 2007; Petit & Vézina, 2014a; Krause et al., 2016). Certaines études ont aussi démontré, chez des espèces tropicales ou tempérées, que l'augmentation de la masse des muscles du vol pour la migration printanière améliorerait la capacité thermogénique et l'endurance au froid ( $M_{sum}$  : Swanson, 1995; Swanson & Dean, 1999; Vézina et al., 2007; Corder & Schaeffer, 2015). Nous pouvons donc émettre **l'hypothèse que les ajustements phénotypiques résultant des conditions hivernales froides peuvent être maintenus pendant la période de préparation à la migration printanière chez les oiseaux qui migrent en conditions froides**, comme les plectrophanes des neiges. Ces espèces pourraient donc bénéficier de l'acclimatation hivernale des mois précédant la migration pour faciliter un départ hâtif et faire face à un environnement froid pendant le vol ainsi qu'à l'arrivée en Arctique.

Au *chapitre 2*, nous avons examiné durant 5 années consécutives chez des plectrophanes des neiges captifs en volière extérieure, les ajustements physiologiques associés à l'acclimatation hivernale, à la migration printanière ainsi qu'à la période correspondant à l'arrivée et à l'été en Arctique. **Les objectifs étaient 1) d'établir le patron d'ajustements phénotypiques des plectrophanes de neiges pendant la transition de l'hiver à la migration et à l'été et 2) de déterminer si le phénotype hivernal est maintenu pendant la phase migratoire.** Dans un contexte où les plectrophanes présenteraient un patron d'ajustements phénotypiques typique de la plupart des oiseaux migrateurs, nous nous attendions à observer une augmentation des paramètres de performance métabolique et de composition corporelle (masse corporelle et lipidique) au printemps afin de supporter les coûts associés au vol. Alternativement, si le phénotype hivernal est effectivement maintenu pendant la transition entre l'hiver et la migration chez cette espèce, nous nous attendions à

ce que les paramètres supportant l'endurance au froid soient maintenus pendant cette transition et pendant la période correspondant au vol vers les sites de reproduction arctiques.

#### **I.6.4 Le plectrophane des neiges maintient-il un phénotype hivernal jusqu'à son arrivée dans l'Arctique ?**

Les espèces nordiques qui se reproduisent dans l'Arctique peuvent faire face à leur arrivée à des conditions hivernales froides comparables ou même plus contraignantes que celles de l'hiver précédent (Meltofte, 1983; Morrison, Davidson, & Wilson, 2007; Walsh, Shapiro, & Shy, 2005; Wingfield, Kelley, & Angelier, 2011). Or, nous avons vu précédemment que les mécanismes physiologiques impliqués dans l'acclimatation hivernale et l'endurance au vol migratoire sont similaires (Dawson, Marsh, & Yacoe, 1983). Nous avons aussi montré que la migration peut mener à des transformations physiologiques considérables comme la perte de masse corporelle, le déclin d'hématocrite et la perte de masse musculaire (Battley et al., 2000; Bauchinger & Biebach, 2005; Bauchinger & McWilliams, 2009; Jenni et al., 2006; Schaub & Jenni, 2000b) et que ces changements peuvent mener au déclin de certains paramètres de performance métabolique (p. ex., Battley et al., 2001). Par conséquent, bien que certains traits phénotypiques puissent potentiellement être transposés entre les phénotypes hivernal et migratoire pour faciliter la migration dans un milieu froid (hypothèse testée au chapitre 2), comme **objectif du chapitre 3** nous avons émis **l'hypothèse que les plectrophanes des neiges seraient en mesure de maintenir un phénotype hivernal pendant la migration ou, alternativement, qu'ils subiraient un déclin de performance lié aux transformations corporelles résultant de la migration.**

Pour tester cette hypothèse, nous avons comparé en utilisant 4 années de données, le phénotype de plectrophanes des neiges capturés au pic de l'hiver dans la région de Rimouski (Québec, 48°N) avec le phénotype d'individus capturés en pré-reproduction à l'extrême nord de leur aire de reproduction (Alert, Nunavut, 82°N). Dans le cas où les plectrophanes seraient en mesure de maintenir un phénotype hivernal pendant la migration, nous nous attendions à observer des valeurs de paramètres similaires en hiver et à l'arrivée. Par contre, si la migration mène à des transformations corporelles affectant négativement la performance

chez cette espèce, nous nous attendions à observer une perte de masse entre l'hiver et le printemps ainsi qu'un déclin des indices de performance entre les phénotypes hivernal et printanier.

### **I.6.5 L'endurance au froid hivernal du plectrophane, reste-t-elle élevée pendant la saison de reproduction ?**

Comme nous l'avons évoqué précédemment, en période de pré-reproduction, définie ici comme la période entre l'arrivée sur les aires de reproduction arctiques et l'établissement des territoires, les espèces nordiques peuvent faire face à des conditions hivernales froides comparables ou même plus contraignantes que celles de l'hiver (Meltofte, 1983; Morrison, Davidson, & Wilson, 2007; Walsh, Shapiro, & Shy, 2005; Wingfield, Kelley, & Angelier, 2011). Face à de telles conditions, les passereaux maintiennent un comportement associé à l'hiver et à la migration. En revanche, le passage de la pré-reproduction à la défense des territoires marque la transition entre un comportement social, hyperphagique et hautement mobile à un comportement sédentaire, territorial et reproducteur (Ramenofsky & Wingfield, 2006, 2017). Toutefois, malgré ce changement de comportement, les espèces reproductrices de l'Arctique continuent d'être confrontées à des conditions thermiques froides jusqu'à tard dans la saison de reproduction (Meltofte, 1983). Par conséquent, l'acclimatation au froid et la reproduction pourraient continuer de se chevaucher. Or nous savons que les ajustements associés à la reproduction peuvent entraîner un déclin des réserves d'énergie, une diminution de l'épaisseur des muscles ainsi qu'une diminution de l'hématocrite (Jehl, 1997; Krause et al., 2016; Morrison, Davidson, & Piersma, 2005; Smith & Moore, 2005), qui pourraient donc être incompatibles avec le maintien des ajustements phénotypiques associés à l'acclimatation au froid. Néanmoins, mis à part les études comportementales (Ramenofsky & Wingfield, 2006, 2017; Wingfield et al., 2004) et quelques études sur la régulation endocrine de ces comportements (Ramenofsky & Wingfield, 2006), aucune étude n'a encore examiné l'effet combiné de la reproduction et d'un environnement froid sur la performance métabolique chez les passereaux nordiques. Par conséquent, dans l'**objectif** du *chapitre 4* nous avons émis **l'hypothèse que les plectrophanes des neiges seraient en mesure de maintenir leur**



**endurance au froid et les paramètres associés durant la période reproduction.** Nous avons aussi émis **l'hypothèse alternative que la performance métabolique et les traits associés pourraient décliner pendant la reproduction** soit en réponse au réchauffement de la température printanière, soit en réponse aux transformations physiologiques associées à la reproduction.

Pour tester ces hypothèses, nous avons comparé durant 4 années consécutives, le phénotype de plectrophanes des neiges capturés à Alert en pré-reproduction, pendant l'établissement des territoires et en reproduction. Dans le cas où les plectrophanes seraient en mesure de maintenir une endurance au froid similaire à l'hiver durant toute la saison de reproduction, nous nous attendions à observer des valeurs de paramètres similaires de la pré-reproduction à la reproduction. Par contre, si les traits d'endurance au froid sont essentiellement influencés par la température, nous nous attendions à ce que la performance métabolique décline lorsque la température dépasse un certain seuil et donc perdure tard dans l'été les années de printemps tardif. Enfin, si la reproduction mène à des transformations corporelles affectant négativement la performance métabolique de cette espèce, nous nous attendions à observer une perte de masse et par conséquent une perte d'endurance au froid entre la pré-reproduction et la défense des territoires.

## **I.7 MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE**

La méthodologie spécifique à chaque étude est détaillée dans le chapitre approprié. Cependant, de manière générale cette étude combine des mesures de performance métabolique, de composition corporelle et de capacité de transport de l'oxygène pour examiner les ajustements phénotypiques de l'espèce pendant trois périodes clés de son cycle annuel : l'hiver dans l'Est-du-Québec, la migration et la reproduction au Nunavut. Ces mesures ont été réalisées en conditions semi-naturelles en travaillant avec des individus maintenus captifs en volière extérieure à Rimouski (48°N) durant l'hiver (*chapitre 1*) et durant les périodes correspondant aux stades de migration, reproduction et été (*chapitre 2*). Elles portent aussi sur des individus capturés en milieu naturel sur leur aire d'hivernage (Rimouski) (*chapitre 3*) ainsi qu'à l'extrémité géographique nord de leur aire de reproduction (Alert, 82°N) (*chapitres 3 et 4*).

### **I.7.1 Phénologie du plectropane des neiges**

La durée moyenne d'hivernage des plectrophanes des neiges est de  $192 \pm 7$  jours, ce qui représente 50 à 54% du cycle annuel de l'espèce (Macdonald et al., 2012). Durant cette période, les plectrophanes s'alimentent en petits groupes de quelques oiseaux à plusieurs centaines d'individus (Montgomerie & Lyon, 2020). À la fin de l'hiver (dès le mois de mars), bien avant la fonte des neiges (Laplante et al., 2019; McKinnon et al., 2019) les plectrophanes effectuent une migration (>2000 km, Johnson & Herter, 1990; Macdonald et al., 2016) vers les aires de reproduction arctiques (jusqu'à 83.6°N). Les mâles légèrement plus gros que les femelles (mâles : masse moyenne : 40g ; femelles : masse moyenne : 37g, Montgomerie & Lyon, 2020) arrivent sur les aires de reproduction jusqu'à un mois avant les femelles, Meltofte, 1983; Montgomerie & Lyon, 2020; Tinbergen, 1939), entre fin avril et début mai pour y sécuriser les territoires de reproduction (Meltofte, 1983). À leur arrivée, les plectrophanes peuvent faire face à des conditions comparables ou pires que celles rencontrées sur les aires d'hivernage incluant une couverture de neige importante pouvant recouvrir jusqu'à 100% du territoire, des températures pouvant atteindre les -30°C (Meltofte, 1983), ainsi que la présence de phénomènes météorologiques imprévisibles comme des tempêtes (Ramenofsky & Wingfield, 2017). Face à ces conditions sévères et imprévisibles, les

plectrophanes maintiennent un comportement hivernal (social, hyperphagique et hautement mobile) jusqu'à ce que les conditions environnementales s'améliorent et que les habitats propices à la reproduction deviennent disponibles. Cette période peut durer plus ou moins longtemps selon si les conditions hivernales à l'arrivée perdurent (Tinbergen, 1939). À partir du moment où les habitats propices à la reproduction deviennent disponibles, les mâles se répartissent rapidement sur les territoires pour localiser une aire de nidification et adoptent un comportement territorial. Ils forment ensuite des couples à l'arrivée des femelles et entament les activités de reproduction. Entre septembre et octobre, les plectrophanes migrent de nouveau vers le Sud (Macdonald et al., 2012).

Bien qu'abondante à l'échelle mondiale avec plus de 40 millions d'individus estimés (BirdLife International, 2021; 14 millions aux États-Unis et au Canada, Rosenberg et al., 2016), la population de plectrophanes des neiges montre une tendance à la baisse à l'échelle globale (BirdLife International, 2021). En Amérique du Nord, au cours des quarante dernières années, la population a subi un important déclin estimé à plus de 60% selon les données provenant de Breeding Bird Survey et/ou Christmas Bird Count (Butcher & Niven, 2007). Alors que la population tend à décliner, cette espèce a néanmoins le statut de préoccupation mineure sur la liste de rouge de l'UICN car le déclin n'est pas considéré comme suffisamment rapide pour atteindre les seuils de vulnérabilité qui sont de 30% sur 10 ans ou 3 générations (BirdLife International, 2021). Au Canada, le plectropane des neiges est considéré comme une espèce en sécurité par le Comité sur la situation des espèces en péril au Canada (COSEPAC)(Conseil canadien pour la conservation des espèces en péril, 2016).

### **I.7.2 Captures sur les aires d'hivernage, Rimouski (Québec)**

Pour cette étude, durant la saison hivernale, les plectrophanes des neiges ont été capturés entre janvier et mars de 2015 à 2018, dans la région de Rimouski (QC), Canada (48°27'N, 68°30'W) à l'aide de trappes de type « *walk-in* » alimentées avec des graines de maïs concassées (Figure I.5). Les mesures de taille structurelle (taille du bec, du tarse, de la queue et de l'aile) (*chapitres 1 à 3*) et de composition corporelle (masse corporelle, score visuel de gras et prise de sang, voir détails plus bas) (*chapitre 3*) étaient prises directement



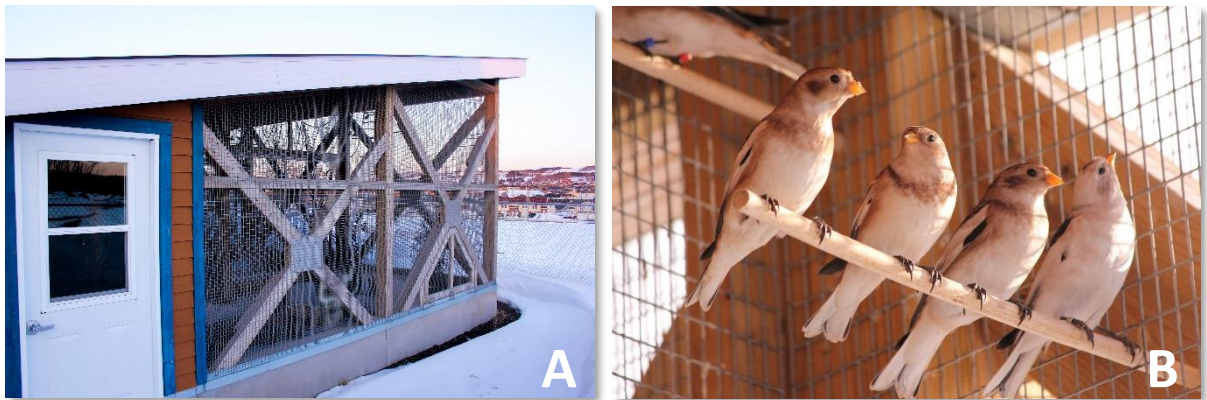
**Figure I.6** Capture de plectrophanes à l'aide de trappes de type « walk-in » sur une aire d'hivernage à Rimouski (QC), Canada. © Audrey Le Pogam

sur place. Une partie des oiseaux étaient équipés d'une bague métal du service canadien de la faune puis relâchée (*chapitre 3*). Une autre partie était ensuite transportée à l'Université du Québec à Rimouski, située à moins de 25 km de distance des sites de capture, pour des mesures complémentaires (masse lipidique et maigre, épaisseur des muscles, performance métabolique, voir détails plus bas) (*chapitre 3*). Une partie de ces oiseaux était gardée en volière extérieure afin de pouvoir les étudier plus longuement dans le cadre des *chapitres 1* et *2*.

### **I.7.3 Maintien en volière extérieure**

Pour les projets en conditions semi-naturelles (*chapitres 1* et *2*), les individus captifs étaient gardés dans des volièrres extérieures (5.8m L × 5.3m P × 2.6m à 3.6m H, toit incliné, Figure I.6) à l'Université du Québec à Rimouski. En volière, les individus étaient exposés aux mêmes conditions météorologiques qu'en milieu naturel excepté qu'ils étaient à l'abri

des précipitations directes. Toute l'année, les oiseaux étaient nourris *ad libitum* avec un mélange de graines (maïs, blé, sorgho, millet blanc, millet rouge, tournesol) et du Mazuri® (aliment nutritionnel complet adapté aux passereaux). Ils avaient également accès *al libitum* à de l'eau fraîche enrichie en vitamines et en électrolytes. Tous les individus captifs étaient bagués avec une combinaison unique de 4 bagues de couleur permettant l'identification.



**Figure I.7** Volière extérieure où sont maintenus les plectrophanes des neiges pendant l'année (A). Plectrophanes des neiges maintenus captifs (B). © Audrey Le Pogam

#### **I.7.4 Aire de reproduction : Alert (Nunavut)**

Alert, est une station militaire des forces canadiennes (CFS) localisée au Nunavut (NU), à la pointe nord-est de l'île de l'Ellesmere ( $82^{\circ}29'58''$ , N  $62^{\circ}28'5''$ W). Située à 817 km du pôle nord, c'est l'une des aires de reproduction les plus nordiques du plectropane des neiges. La localité la plus proche est la communauté inuite Ajuittuq (Grise Fiord), à environ 725 km au sud. Les structures et les équipements présents sur place permettent de vivre et de travailler dans l'environnement arctique sur une base permanente. Un laboratoire scientifique entièrement équipé et fonctionnel est à notre disposition durant toute la saison de terrain, il permet d'effectuer toutes les mesures physiologiques dans les 24h suivant la capture des individus (*chapitres 3 et 4*). Le site de capture le plus éloigné de notre aire d'étude qui s'étend sur 100 km<sup>2</sup> est situé à 6 km de notre laboratoire. Une station météorologique est présente sur place, enregistrant en continu plusieurs paramètres météorologiques dont la température de l'air, l'épaisseur de neige au sol et les précipitations.

### I.7.5 Captures sur une aire de reproduction, Alert

Sur le site de reproduction, les oiseaux étaient capturés de mai à août entre 2016 et 2019 (*chapitres 3 et 4*). En période de pré-reproduction, lorsque la neige est encore bien présente, les plectrophanes des neiges étaient capturés avec des trappes de types « *walk-in* » comme en hiver (Figure I.5). Plus tard, en défense de territoire et en reproduction, les adultes étaient capturés à l'aide de trappes des type « *potter* » et « *spring* » (Figure I.6) accompagnées d'une repasse et d'un leurre vivant.

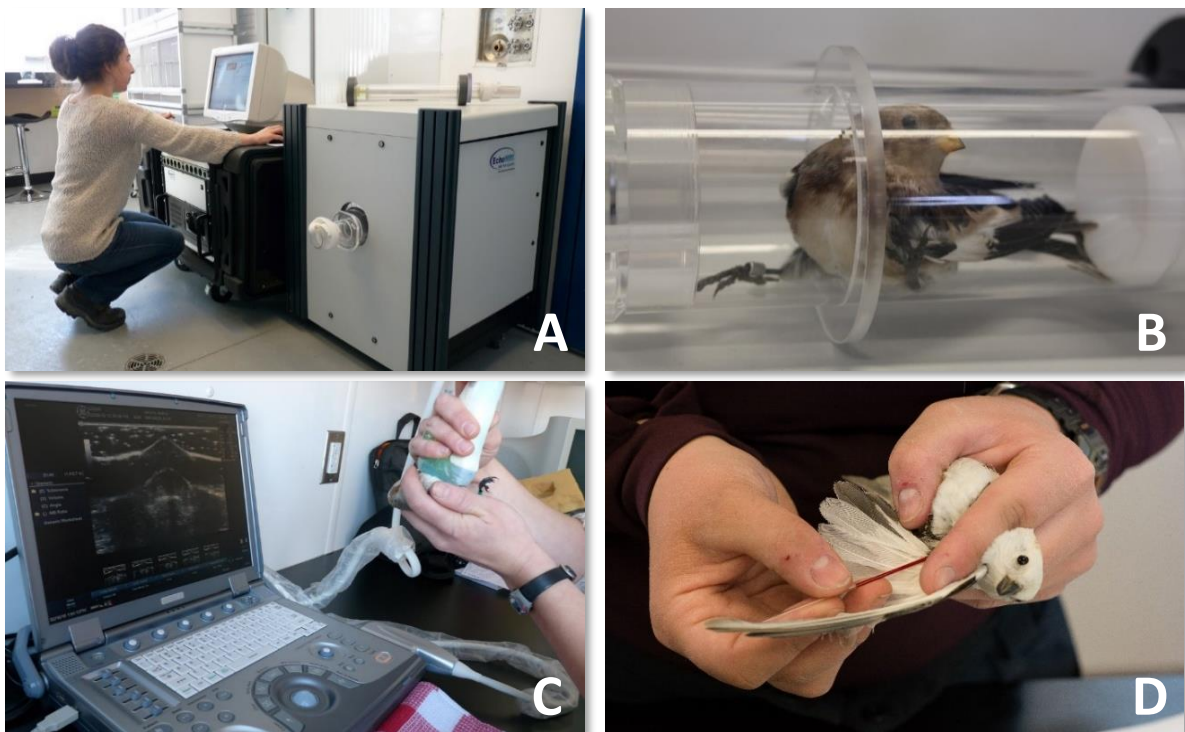


**Figure I.8** Capture de plectrophanes de neiges à l'aide de trappes de type « *potter* » et « *spring* », en période de défense de territoires ou de reproduction à Alert (NU). © Audrey Le Pogam

Comme en hiver, les mesures de taille structurelle (taille du bec, du tarse, de la queue et de l'aile) et de composition corporelle (masse corporelle, score visuel de gras et prise de sang, voir détails plus bas) étaient prises directement sur place. Les oiseaux étaient ensuite transportés au laboratoire (temps de transport < 20 min) pour des mesures complémentaires (épaisseur des muscles et performance métabolique, voir détails plus bas). Tous les individus capturés à Alert (*chapitres 3 et 4*) étaient équipés d'une bague de métal du service canadien de la faune ainsi que d'une combinaison de trois bagues de couleur permettant l'identification à distance.

### I.7.6 Mesures de composition corporelle et d'hématocrite

Pour les études en captivité, les masses maigre et lipidique ( $\pm 0.01g$ ) étaient estimées grâce à un appareil à résonance magnétique quantitative (QMR, EchoMRI, Guglielmo et al., 2011, Figures I.8A,B) (*chapitres 1 et 2*). À Alert, les réserves d'énergie étaient estimées grâce à un score visuel de gras allant de 0 à 6 (Canadian snow bunting network, Love et al., 2012) (*chapitres 3 et 4*). L'épaisseur des muscles pectoraux était évaluée grâce à des mesures d'échographie (échographe LOGIQe, 12MHz, Dietz et al. 2007; Swanson & Merkord, 2012, Figure I.8.C) (*chapitres 1 à 4*). Finalement, les mesures d'hématocrite étaient réalisées grâce des prélèvements sanguins effectués au niveau de la veine alaire ( $<1\%$  de la masse corporelle totale, McGuill & Rowan, 1989, Figure I.8D), rapidement après la capture puis centrifugés (*chapitres 1 à 4*).



**Figure I.9** Appareil à résonance magnétique quantitative QMR EchoMRI® permettant d'estimer la masse lipidique et maigre des oiseaux (A). Plectrophane des neiges maintenu dans un tube de plexiglas afin d'être mesuré par QMR (B). Réalisation d'une échographie pour mesurer l'épaisseur des muscles pectoraux (C). Prélèvement sanguin au niveau de la veine alaire (D). © Audrey Le Pogam

### I.7.7 Mesures de performance métabolique

Toutes les mesures de performance métabolique de cette étude ont été réalisées par respirométrie (Figure I.9). Cette technique consiste à estimer la consommation d'énergie de l'animal à partir de la mesure de consommation d'oxygène dans des conditions standardisées en laboratoire. Les mesures de capacité thermogénique maximale ( $M_{\text{sum}}$ ) ont été effectuées sur des oiseaux exposés au froid (c.-à-d., températures inférieures à la TNZ du plectropane des neiges, Figure I.3) (*chapitres 1 à 4*) au moins une heure après la fin des mesures de composition corporelle sur 2 oiseaux simultanément. L'endurance au froid a été mesurée par le temps d'exposition au froid jusqu'à l'atteinte du  $M_{\text{sum}}$  tandis que la tolérance au froid a été estimée par la température à l'intérieur de la chambre métabolique lors du  $M_{\text{sum}}$  (*chapitres 1 et 2*). Les mesures de coûts métaboliques de base (BMR) ont été réalisées sur un maximum de 4 oiseaux simultanément maintenus durant une nuit complète à 25°C, soit une température dans leur TNZ (Scholander, Walters, et al., 1950) (*chapitres 1 à 4*).



**Figure I.10** Système de respirométrie utilisé à Alert pour mesurer la performance métabolique ( $M_{\text{sum}}$  et BMR) des plectrophanes des neiges. © Audrey Le Pogam



# CHAPITRE 1

---

**AUGMENTATION IMPORTANTE DE L'ENDURANCE AU FROID CHEZ  
LE PLECTROPHANE DES NEIGES DURANT L'HIVER SANS  
CHANGEMENT DANS LES COÛTS DE MAINTENANCE  
PHYSIOLOGIQUES**



© Audrey Le Pogam

**Wintering snow buntings elevate cold hardiness to extreme levels, but show no changes in maintenance costs**

Audrey Le Pogam<sup>1,2</sup>, Oliver P. Love<sup>3</sup>, Lyette Régimbald<sup>1</sup>, Karine Dubois<sup>1,2</sup>, Fanny Hallot<sup>1,2</sup>, Myriam Milbergue<sup>1,2</sup>, Magali Petit<sup>1,2</sup>, Ryan S. O'Connor<sup>1,2</sup> and François Vézina<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, Canada*

<sup>2</sup> *Groupe de recherche sur les environnements nordiques BORÉAS, Centre d'Études Nordiques, Centre de la Science de la Biodiversité du Québec, Rimouski, QC, Canada*

<sup>3</sup> *Department of Integrative Biology, University of Windsor, Windsor, ON, Canada*

**Publication :** octobre 2020 dans *Physiological and Biochemical Zoology*, 93(6), 417-433

**Contributions :** Conception de l'étude et élaboration de la méthodologie : ALP, FV ; Récolte des données : ALP, LR, KD, FH, MM, MP ; Analyse des données : ALP ; Rédaction : ALP, RSO, FV, OPL ; Financement : FV, OPL ; Tous les auteurs ont contribué de manière critique au projet et ont donné leur approbation finale pour la publication.

**Communications :** Une version abrégée de cet article a été présentée lors des conférences suivantes :

2019 : Oral - *International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry*, Ottawa, ON

2018 : Oral - *International Ornithological Congress*, Vancouver, BC

2017 : Oral - *Arctic Change, congrès annuel du réseau ArcticNet*, Québec, QC

2015 : Poster - *Association Canadienne Francophone pour le Savoir*, Rimouski, QC

Poster - *Centre D'Études Nordiques*, Québec, QC

Poster - *Society for Integrative and Comparative Biology*, West Palm Beach, FL, USA

2014 : Poster - *Centre de la Science de la Biodiversité du Québec*, Montréal, QC

## 1.1 RÉSUMÉ

Les passereaux résidents dans les zones tempérées ajustent leur phénotype pour faire face aux contraintes hivernales, avec un pic de performance de leurs paramètres métaboliques généralement pendant les mois les plus froids. Cependant, nous savons peu de choses sur les adaptations au froid des espèces nordiques face aux environnements saisonniers variables. La vie dans un froid presque constant pourrait être associée à une flexibilité limitée des traits sous-jacents à l'endurance au froid. Nous avons étudié cette question en suivant les changements physiologiques individuels pendant 5 hivers consécutifs chez le plectrophanes des neiges (*Plectrophenax nivalis*), un passereau migrateur se reproduisant dans l'Arctique, généralement confronté à un froid presque constant. Les plectrophanes étaient gardés dans une volière extérieure et exposés aux variations saisonnières de température typiques des climats des zones tempérées. Nous avons mesuré les changements phénotypiques de la composition corporelle (masse corporelle, masse lipidique et maigre, épaisseur des muscles pectoraux), de la capacité de transport de l'oxygène (hématocrite), de la performance métabolique (taux métabolique de base et maximal, BMR et  $M_{sum}$ ), de l'endurance thermogénique (temps pour atteindre  $M_{sum}$ ) et la tolérance au froid (température au  $M_{sum}$ ). Les plectrophanes des neiges ont montré une flexibilité dans les fonctions sous-jacentes à la capacité thermogénique et à l'endurance au froid comparable à celle observée chez les passereaux résidents tempérés hivernant à des latitudes similaires. Plus précisément, ils ont augmenté leur masse corporelle (13 %), leur masse lipidique (246 %), leur hématocrite (23 %), l'épaisseur du muscle pectoral (8 %) et leur  $M_{sum}$  (27 %). Nous avons également constaté une tolérance au froid remarquable chez ces oiseaux, avec des individus atteignant un  $M_{sum}$  dans l'héliox à des températures équivalentes à  $<-90^{\circ}\text{C}$  dans l'air. Cependant, contrairement aux passereaux résidents des zones tempérées, la masse maigre a diminué de 12 % et il n'y a pas eu de nette augmentation des coûts de maintenance (BMR). Nos résultats montrent que la flexibilité des traits qui sous-tendent l'acclimatation thermique chez une espèce nordique adaptée au froid est comparable à celle des espèces résidentes tempérées vivant à des latitudes plus basses et n'est donc pas limitée par la vie dans un froid quasi constant.

**Mots-clés :**  $M_{sum}$ , BMR, Masse lipidique, Masse maigre, Hématocrite, Acclimatation au froid, Hiver, Plectrophanes des neiges

## 1.2 ABSTRACT

Resident temperate passerines adjust their phenotypes to cope with winter constraints, with peak performance in metabolic traits typically occurring during the coldest months. However, it is sparsely known whether cold-adapted northern species make similar adjustments when faced with variable seasonal environments. Life in near constant cold could be associated with limited flexibility in traits underlying cold endurance. We investigated this by tracking individual physiological changes over 5 consecutive winters in snow buntings (*Plectrophenax nivalis*), an Arctic-breeding migratory passerine, typically confronted with nearly constant cold. Buntings were held in a outdoor aviary and exposed to seasonal temperature variation typical of temperate-zone climates. We measured phenotypic changes in body composition (body, fat and lean mass, pectoralis muscle thickness), oxygen transport capacity (hematocrit), metabolic performance (basal and summit metabolic rates, BMR and  $M_{sum}$ ), thermogenic endurance (time to reach  $M_{sum}$ ) and cold tolerance (temperature at  $M_{sum}$ ). Snow buntings showed flexibility in functions underlying thermogenic capacity and cold endurance comparable to that observed in temperate resident passerines wintering at similar latitudes. Specifically, they increased body mass (13%), fat mass (246%), hematocrit (23%), pectoralis muscle thickness (8%) and  $M_{sum}$  (27%). We also found remarkable cold tolerance in these birds, with individuals reaching  $M_{sum}$  in helox at temperatures equivalent to  $<-90^{\circ}\text{C}$  in air. However, in contrast with resident temperate passerines, lean mass decreased by 12% and there were no clear increase in maintenance costs (BMR). Our results show that the flexibility of traits underlying thermal acclimatization in a cold-adapted northern species is comparable to that of temperate resident species living at lower latitudes and is therefore not limited by life in near-constant cold.

**Key words :**  $M_{sum}$ , BMR, Fat mass, Lean mass, Hematocrit, Cold acclimatization, Winter, Snow bunting

### 1.3 INTRODUCTION

Organisms face multiple proximate (i.e., energetic) costs within and across life stages induced by environmental constraints that ultimately (i.e., in a fitness sense) shape life-history variation within and across species. Organisms can respond to environmental variability across a diversity of timescales via multiple nonexclusive mechanisms, including phenotypic flexibility (Piersma & van Gils, 2011), phenotypic (developmental) plasticity (Pigliucci, 2005), and contemporary evolution (Grant & Grant, 2002). Within studies of short-term flexible responses to environmental challenges, more and more integrative ecologists are examining underlying mechanisms, such as gene transcription (Barrio et al., 2016; Bengston et al., 2018) and physiological central regulation (Bennett et al., 2019; Evans et al., 2017; Karasov & Martinez del Rio, 2007), to quantify the details of how and why organisms respond to environmental variability. Many of these investigations have centered on the seasonal regulation of metabolic responses to extreme environments (e.g., cold, deserts; McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; Sharbaugh, 2001; Smit & McKechnie, 2010), with small, short-lived, high-metabolic-demand endothermic species such as mammals and birds living in extreme environments making compelling models (McKechnie & Wolf, 2019). Within these studies, a focus on the central regulation and outputs of whole-animal metabolism has been an especially fruitful area of investigation (Swanson & Liknes, 2006; Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017; White & Kearney, 2013), although there remains a diversity of unanswered questions.

Winter cold acclimatization is a well-documented process in small resident bird species, particularly in those living in temperate areas (Cooper & Swanson, 1994; McKechnie, 2008; McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; Petit, Lewden, & Vézina, 2013; Swanson & Liknes, 2006). Typically, these birds increase the size of their fat reserves in winter (Blem, 1976; Cooper, 2007; Gosler, 1996; Lehikoinen, 1987) and enlarge several internal organs (Barceló, Love, & Vézina, 2017; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Swanson, 2010), including the heart and lungs (Liknes & Swanson, 2011; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Zheng et al., 2008) and the pectoralis muscles (Cooper, 2002; O'Connor, 1995; Petit, Lewden, & Vézina, 2013; Swanson & Merkord, 2012; Swanson & Vézina, 2015 but see

Barceló, Love, & Vézina, 2017; Milbergue, Blier, & Vézina, 2018; Swanson, King, & Harmon, 2014). Cold acclimatization also triggers an increase in oxygen carrying capacity (e.g., hematocrit; O'Connor, 1996; Swanson, 1990b) to support metabolic activities, such as shivering thermogenesis (Carey & Morton, 1976; Petit & Vézina, 2014a; Swanson, 1990a), and leads to adjustments in metabolic performance. Summit metabolic rate ( $M_{\text{sum}}$ ) is a measure of maximal shivering heat production and is considered an index of cold endurance, while basal metabolic rate (BMR) is interpreted as an index of physiological maintenance costs (Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017). Both  $M_{\text{sum}}$  and BMR are commonly found to increase as temperatures decline in the fall (McKechnie & Swanson, 2010; Swanson, 2010 for reviews, see McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; Petit, Lewden, & Vézina, 2013), and the increase in  $M_{\text{sum}}$  has been associated with higher survival (Latimer et al., 2018; Petit, Clavijo-Baquet, & Vézina, 2017).

Although winter cold acclimatization is well documented for temperate resident passerines that experience large seasonal thermal variation (Cooper & Swanson, 1994; McKechnie, 2008; McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; Petit, Lewden, & Vézina, 2013; Swanson & Liknes, 2006), some species or populations of birds face cold temperatures almost year-round (Brooks, 1968; Pohl & West, 1973; Sharbaugh, 2001; White & West, 1977). These species, typically living above 50°N, can show phenotypic patterns differing from what is observed in temperate regions. For example, black-capped chickadees (*Poecile atricapillus*) living at 64°N in Alaska show no seasonal changes in resting metabolic rate (measured at -30° and 25°C) despite summer temperatures ranging from 10° to 20°C (Sharbaugh, 2001). Similarly, willow tits (*Poecile montanus*) in Norway (63°N) maintain constant metabolic performance throughout summer and winter (Reinertsen & Haftorn, 1983). This could be due to summers at these latitudes being short, relatively cold, and unpredictably variable in temperature (Martin & Wiebe, 2004), thus promoting the maintenance of high cold endurance and therefore preventing clear seasonal phenotypic variation. However, whether species and/ or populations experiencing cold most of the year are in fact able to adjust their phenotype similarly to those living in predictable seasonal environments at lower latitudes still remains to be examined.

The snow bunting (*Plectrophenax nivalis*) is one such remarkable case: except for a few weeks during breeding when temperatures rise above freezing in most of their range, buntings remain associated with snowy, cold, relatively harsh environments year-round (Montgomerie & Lyon, 2020; Snell et al., 2018). Indeed, this small (30–50 g) circumpolar migratory song-bird winters in open snowy plains of North America, Europe, and Asia (between 40°N and 60°N; Banks et al., 1991; BirdLife International, 2021; Montgomerie & Lyon, 2020; Snell et al., 2018; Yesou, 1998). It then migrates through winter landscapes in the spring well before snowmelt (Laplante et al., 2019; McKinnon et al., 2019) and arrives on its Arctic breeding grounds up to 83.6°N (BirdLife International, 2021; Cramp & Perrins, 1994) while temperatures can still regularly reach -25° to -30°C (Meltofte, 1983). Temperatures remain mostly above freezing during breeding, but highly unpredictable Arctic weather means that buntings can be faced with sudden snowstorms in the middle of an already short summer across their breeding range (Hussell, 1972; Serreze & Barry, 2005). In the fall, birds migrate south as winter begins in the Arctic, with first arrivals on their wintering grounds in late October (Macdonald et al., 2012; McKinnon et al., 2016; Snell et al., 2018). Therefore, snow buntings truly combine the “worst of both worlds” by having to migrate fairly long distances (>2 000 km; Johnson & Herter, 1990; Macdonald et al., 2016) while enduring harsh, cold conditions across winter, migration, and arrival at their Arctic breeding grounds. Given that the species seems well adapted for life in nearly constant cold (Montgomerie & Lyon, 2020; Scholander, Hock, Walters, & Irving, 1950; Scholander, Walters, et al., 1950; Vincent & Bédard, 1976), it constitutes an ideal model for examining whether such cold-adapted northern species are limited in their flexible response to seasonally variable environmental conditions, such as those of lower latitudes.

Here, we investigated wintering phenotypic adjustments in this cold specialist by exposing individuals to seasonal temperature variation typical of that experienced by temperate zone resident species (minimum: -26°C; maximum: 28°C). For this, we used a data set from five consecutive years from captive buntings held year-round in seminatural outdoor conditions within their wintering range (48°N). Specifically, we monitored fine adjustments in body mass ( $M_b$ ), fat and lean mass, pectoralis muscle thickness, oxygen transport capacity

(hematocrit), and metabolic performance (BMR and  $M_{\text{sum}}$ ) from August to early March (i.e., the time during which snow buntings begin fattening for migration; Vincent & Bédard, 1976). We predicted two potential outcomes given the life history of snow buntings. First, if flexibility of traits underlying cold endurance is a common attribute among birds irrespective of temperature variation experienced within their habitats, buntings should express a phenotypic pattern typical of cold acclimatization, as seen in resident temperate passerines during winter at this latitude (e.g., Petit, Lewden, & Vézina, 2013) – namely, increases in body composition parameters ( $M_b$ , fat and lean mass), hematocrit, thermogenic capacity ( $M_{\text{sum}}$ ), thermogenic endurance and cold tolerance (time to  $M_{\text{sum}}$  and temperature at  $M_{\text{sum}}$ , respectively), and maintenance energy expenditure (BMR), with trait values peaking at the coldest portion of winter (Petit, Lewden, & Vézina, 2013, 2014). Alternatively, if life in near-constant cold is associated with limited flexibility in cold-endurance traits, birds would be expected to show no clear patterns from the end of summer to the peak of winter in a temperate environment, instead maintaining winter-level cold hardiness throughout the investigated period (Reinertsen & Haftorn, 1983; Sharbaugh, 2001).

## **1.4 MATERIALS AND METHODS**

### **1.4.1 Ethics statement**

All bird handling was approved by the animal care committee of the Université du Québec à Rimouski (CPA-54-13-130 and CPA-71-17-195), and has been conducted under scientific (SC-48) and banding (10889E) permits from Environment and Climate Change Canada.

### **1.4.2 Captive housing conditions**

From 2013 to 2018 we studied captive male snow buntings at the avian facilities of the Université du Québec à Rimouski, Canada (48°27'00''N; 68°30'45''W). Wild birds were captured during winters using walk-in traps in fields around Rimouski between January and March of each year. Birds were banded with a combination of four colored bands for identification and we took morphometric measurements (length of head plus beak, tarsus, tail



and right wing) at capture to calculate a body size index (see below). Birds were maintained in an outdoor aviary (5.8m wide × 5.3m deep × 2.6-3.6m high, with angled ceiling) and were exposed to the elements while being sheltered from direct precipitation. Once in the aviary, birds were fed *ad libitum* with a seed-mix (crushed corn, wheat, sorghum, white millet, red millet, black oil sunflower; Armstrong, Hagersville, ON, Canada) and Mazuri small bird maintenance mini diet (#562A; Mazuri, Richmond, IN, USA) using several poultry feeders to guarantee access to food for all individuals. We also offered ice-free water *ad libitum* using heated bowls (1L, Ukal, St-Hyacinthe, QC, Canada) and supplemented with electrolytes (0.17g/L; Electrolytes Plus, Vetoquinol N.-A. Inc. Lavaltrie, QC, Canada) and vitamins (0.44g/L; Poly-tonine A Complex, Vetoquinol N.-A. Inc. Lavaltrie, QC, Canada). The size of our study group varied between 12 and 32 birds (average group size over the 5 years =  $20.7 \pm 0.7$ ) and totaled 102 individual snow buntings due to the addition of new birds each winter to replace mortalities.

#### **1.4.3 Tracking of environmental variables**

Between 2013 and 2018, from November to March of each year, we measured air temperature ( $T_a$ ) in the aviary using a temperature-sensitive data logger (iButton DS1922L, Maxim Integrated, San Jose, CA, USA) suspended 155cm above ground level in the shade. Temperature was recorded every 10 min, and we extracted the average, minimum and maximum  $T_a$  for each day. Missing data (9.5% of total dataset) were obtained from regressions between iButton data and  $T_a$  data derived from the nearest weather station (48°30'50''N; 68°28'06''W, Government of Canada <http://climat.meteo.gc.ca>) ( $T_a$  average,  $r^2 = 0.98$ ;  $T_a$  min,  $r^2 = 0.97$ ;  $T_a$  max,  $r^2 = 0.97$ ). Day length data (i.e., interval between sunrise and sunset, excluding twilight) were obtained from the National Research Council of Canada (<https://www.nrc-cnrc.gc.ca>).

#### **1.4.4 Experimental design and sampling schedule**

Given we were interested in tracking intra-individual phenotypic variation, we repeatedly measured each bird from the end of August to early March over the 5 years (range 1-47 times depending on individuals, Table A.1). Measurements of metabolic performance,

body composition, and hematocrit occurring on the same day were limited to four birds per day, resulting in an average of 21 days to measure all birds. These measurements were performed on a monthly basis, except for 2016-18 (Table A.1). However, from October 2014 to January 2016, and from November 2017 to January 2018, body composition and hematocrit measurements were obtained twice a month. Birds were thus measured a second time in each month, all on the same day. Each measurement series (Table A.1) for a given month were conducted on similar dates each year.

#### **1.4.5 Body composition and oxygen carrying capacity**

For a given day of measure, our protocol involved the following steps. Birds were caught in the aviary between 8:00 and 11:00 using a hand-held net and a blood sample ( $< 1\%$  of  $M_b$ ; McGuill & Rowan, 1989) was immediately taken from the brachial vein. These samples were later centrifuged (10 min at 8 000 RPM; UNICO PowerSpin BX Centrifuge C886, Dayton, NJ, USA) to obtain hematocrit data and plasma samples for parallel studies. The birds were then weighed ( $\pm 0.01\text{g}$ ), and we non-invasively estimated the fat and lean components of their  $M_b$  using quantitative magnetic resonance (QMR,  $\pm 0.01\text{g}$ ; EchoMRI, Houston, TX, USA; Guglielmo et al., 2011) beginning in November 2014. Three or four QMR measurements were taken on each bird ( $< 12$  min total in QMR machine), and average values were subsequently used for analyses. We also noninvasively estimated the thickness of pectoralis muscles by ultrasonography (Dietz et al., 2007; Swanson & Merkord, 2012) using a LOGIQe ultrasound scanner fitted with a linear probe (12MHz, GE Healthcare, Wauwatosa, WI, USA). We placed the probe (enclosed in a latex condom containing ultrasonic gel to avoid soaking the feathers; Royer-Boutin et al., 2015), on the bird's left pectoralis at a  $90^\circ$  angle to the keel, 1-2mm from the upper keel tip, which provided a cross-sectional image of the muscle whereby a thickness measurement could be obtained from the base of the keel to the skin (at a  $45^\circ$  angle relative to the keel). Our approach followed the procedure described by Royer-Boutin et al. (2015) with the following improvement: keel height was also measured for each bird to control for variation in muscle thickness due to the positioning of the probe, knowing that both keel height and muscle thickness are at their tallest/thickest close to the furculum and values decrease towards the abdomen. As keel

height is strongly correlated with muscle thickness ( $n = 620$ ,  $r^2 = 0.80$ ,  $P = <0.001$ ), including keel height as a covariate in models statistically controls for any impact of probe position on muscle thickness. Three or four measurements of pectoralis muscle thickness and keel height were obtained for each bird and were averaged for analyses. Repeatability of ultrasound measurements were  $r^2 = 0.97$  for pectoralis and  $r^2 = 0.89$  for keel (but see Royer-Boutin et al., 2015). Birds were then moved to an indoor cage (117cm wide  $\times$  31cm deep  $\times$  39cm high) with food and water provided *ad libitum* until they were either released in the aviary or used for metabolic performance measurements.

#### 1.4.6 Metabolic performance measurements

On days of metabolic rate trials, two birds were taken from their cages for  $M_{\text{sum}}$  measurement at least 1h after ultrasound measurements. Trials began between 10:05 and 14:50 (average: 12:05  $\pm$  1h02; duration: 1.97  $\pm$  0.8h) and measurements on the remaining two birds began between 12:15 and 17:30 (average: 14:40  $\pm$  56min; duration: 1.80  $\pm$  0.7h). Order and timing of trials did not affect  $M_{\text{sum}}$  or time to  $M_{\text{sum}}$  values and were not considered further in analyses. Each trial began by measuring the birds'  $M_b$ . We then measured body temperature ( $T_b$ ) with a thermocouple reader (Omega model HH-25KC, NIST-traceable, Omega, Montréal, QC, Canada) using a copper constantan thermocouple inserted into the cloaca approximately 10mm (mean  $T_b$  before  $M_{\text{sum}}$ : 41.2  $\pm$  0.06°C). Birds were then placed in airtight stainless-steel metabolic chambers (1.5L) equipped with a perch and a copper constantan thermocouple connected to a Sable Systems TC-2000 thermocouple reader (Sable Systems, Las Vegas, NV, USA) to continuously monitor chamber temperature. Chambers were placed inside a temperature controlled cabinet (modified freezer) wherein we performed a sliding cold exposure protocol (Swanson, Drymalski, & Brown, 1996). Using a flow rate of 1 200mL.min<sup>-1</sup> controlled by mass flow valves (Sierra Instruments, Side-Trak<sup>®</sup>, Monterey, CA, USA calibrated for air and helox with a bubble-O-meter, Dublin, OH, USA), birds were first exposed to dry CO<sub>2</sub>-free air for 10 min at -18°C (-15°C in August and September) during which oxygen readings on our analyzer (Servomex gas purity analyzer, model 4100, Boston, MA, USA) were adjusted to 20.95% for that same reference air. Chamber inflow was then switched to a helox gas mixture (21% oxygen, 79% helium), to increase heat loss

(Rosenmann & Morrison, 1974). A 5-min baseline in helox was then recorded before measuring the birds' oxygen consumption ( $\dot{V}O_2$ ), starting at  $-18^\circ\text{C}$  or  $-15^\circ\text{C}$ , with temperature decreasing by  $3^\circ\text{C}$  every 20 min until birds became hypothermic (visible as a steady decline in  $\dot{V}O_2$  for several minutes) or the end of the program was reached. Birds with  $T_b < 37^\circ\text{C}$  at the end of a trial were considered hypothermic (Swanson & Liknes, 2006). Before January 2015, our program lasted 125 min which allowed our freezer to reach temperatures  $< -30^\circ\text{C}$  ( $-27.05 \pm 0.6^\circ\text{C}$  in chambers). However, even though birds were exposed to helox, several snow buntings showed no signs of hypothermia at this temperature. Starting in January 2015, we therefore extended our program to 185 min and added dry ice in the cabinet as soon as the temperature in the cabinet reached  $-30^\circ\text{C}$ , which allowed all birds to become hypothermic. Out of 326 measurements, 41 (12.6%) involved birds that were considered non-hypothermic by the end of the trial. However, as maximal ( $\dot{V}O_2$ ) can occur earlier than the typical decline in  $\dot{V}O_2$  indicating hypothermia (Dutenhoffer & Swanson, 1996), a hypothermic state is not a prerequisite to confirm that  $M_{\text{sum}}$  has been attained. In this study, we decided to include all measurements in analyses because removing non-hypothermic birds had no influence on the final results. Birds were then placed back in their cage with food and water until BMR trials.

We measured BMR on all four birds simultaneously, starting between 17:00 and 22:00 (average duration:  $13.7 \pm 1.2\text{h}$ ). Metabolic chambers were placed in a PELT-5 (Sable Systems, Las Vegas, NV, USA) temperature cabinet set at  $25^\circ\text{C}$ , a temperature within thermoneutral zone of snow buntings (Scholander, Hock, Walters, & Irving, 1950). Throughout the night, birds received dry,  $\text{CO}_2$ -free air at a constant rate of  $650\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  maintained by mass flow controllers. The air sent to the analyzer alternated automatically between reference air (10 min) and chamber air (40 min) using a multiplexer (Sables Systems MUX, Sable Systems, Las Vegas, NV, USA). After BMR measurements, birds were released back in the outdoor aviary.

For both  $M_{\text{sum}}$  and BMR measurements, before excurrent air from chambers entered the analyzer, it was scrubbed of water and  $\text{CO}_2$  using columns of  $\text{H}_2\text{O}$  absorbent (indicating

desiccant 6-8 mesh, Millipore Ltd, Etobicoke, ON, Canada and indicating drierite 8 mesh, Hammond Drierite, Xenia, OH, USA) and a column of CO<sub>2</sub> absorbent (Intersob 812 mesh, Intersurgical, Burlington, ON, Canada), respectively. Oxygen levels were recorded with a sampling interval of 5 sec for  $M_{\text{sum}}$  and 20 sec for BMR. Metabolic rate calculations were conducted using the ExpeData software version 1.8.4 (Sable Systems).  $M_{\text{sum}}$ , and BMR calculations were based on the highest and lowest averaged 10 minutes of  $\dot{V}O_2$ , respectively, using equation (10.1) from Lighton (2019).  $M_{\text{sum}}$  was calculated using the instantaneous measurement technique (Bartholomew, Vleck, & Vleck, 1981), whereas BMR calculations assumed a steady state. As temperature changed automatically every 20 min during  $M_{\text{sum}}$  trials, all birds starting at -18°C (n = 298) experienced the same measurement sequence. Consequently, for these individuals we could calculate thermogenic endurance (sensu Swanson & Liknes, 2006), defined here as the time needed for a bird to reach its  $M_{\text{sum}}$  (hereafter “time to  $M_{\text{sum}}$ ”). We also extracted the metabolic chamber temperature at which each bird attained their  $M_{\text{sum}}$  (hereafter “ $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$ ”). The duration of BMR trials ensured that birds were post-absorptive at the time of BMR measurement (which occurred after  $6.28 \pm 2.45$ h of measurement on average). We converted  $\dot{V}O_2$  to energy consumption assuming a respiratory quotient of 0.71 and we converted units to watts using a thermal equivalent of  $19.8\text{kJ}\cdot\text{L}^{-1}\text{O}_2$  (Gessaman & Nagy, 1988).

### **1.4.7 Statistical analysis**

#### **1.4.7.1 Intra-seasonal variation in phenotypic traits**

Our main objective was to obtain a detailed pattern of phenotypic variation in body composition, hematocrit and metabolic performance in wintering outdoor captive snow buntings. Our analyses therefore focused on the period spanning from August to early March. August was our reference point for the summer phenotype, the time at which breeding in the Arctic is completed. Although March is still a winter month in Rimouski, with sub-zero temperatures and snow on the ground, it was considered the end of winter in this study because birds begin to fatten up at this time and change their phenotype for migration

(Laplante et al., 2019; Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021; Vincent & Bédard, 1976).

We used linear mixed-effect models to investigate patterns of variation in each parameter. Bird ID was included as a random variable to control for repeated measurements on the same bird. Models also included a fixed time variable called “month”, which corresponds to the sequence of measurement including one or two measures per month (e.g., Dec-1, Dec-2, Jan-1, Jan-2 etc.; Table A.1). The variable year was ultimately treated as a random parameter because we did not have measurements for all months in each of the 5 years. Consequently, we could not include a month  $\times$  year interaction term in our models, which would have been the variable required for interpreting year effects in seasonal phenotypic changes (because the variable year would pool values for all months). We nevertheless represented inter-annual variation for each parameter visually (gray points and lines in Figures 1.2, 1.3) and, to do so, we conducted the same linear mixed-effect models for each year separately and generated the associated least square means used in the figures.

Although our captures were all conducted in the morning, we also considered the potential effect of daily fattening (e.g., Laplante et al., 2019) on our variables by including relative time of capture (e.g., the time between sunrise and capture /daylength). However, this variable was never significant, so we did not consider it further. Because structurally large individuals can carry more fat reserves and more lean tissue than smaller individuals (Peig & Green, 2009), we included a measure of structural body size as a covariate in models investigating variation in total, lean and fat mass as well as in models on pectoralis muscle thickness. Least square means extracted from models with a significant size covariate are therefore presented as size-independent variables. Our structural body size estimate was the first principal component obtained from a principal component analysis combining variation in head plus beak, tarsus, wing and tail length (Rising & Somers, 1989). For analyses investigating variation in pectoralis muscle thickness, we also included keel height as a covariate to control for variation in thickness due to probe positioning.

Seasonal variation in metabolic performance, thermogenic endurance and cold tolerance was first analyzed considering whole  $M_{\text{sum}}$ , time to  $M_{\text{sum}}$ ,  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$  and BMR before exploring mass-independent variation. This was done using the same approach as for the size effect on body composition. However, we used lean mass rather than total  $M_b$  as a covariate in models because changes in the amount and activity of lean tissue are considered the main driver of whole-animal metabolic rate in birds (Piersma et al., 1996, 2004; Swanson et al., 2017). Least square means extracted from models with a significant lean mass covariate are therefore presented as mass-independent variables. Note that time to  $M_{\text{sum}}$  and  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$  analyses were only based on data collected after we began using dry ice and individuals starting at  $-15^\circ\text{C}$  were removed for the time to  $M_{\text{sum}}$  analyses.

#### **1.4.7.2 Relationships between phenotypic traits**

This study also provided an opportunity to investigate how body composition parameters might covary over time and relate with metabolic performance. We thus extracted least square means generated by the mixed-effect models described above including year as a random parameter and used them in linear regressions where each point then represented the average value for a specific month (see Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011). Therefore, this new set of data included 14 values for each parameter of body composition and hematocrit and 8 values for each parameter of metabolic performance. In the specific cases where we compared least square means of metabolic performance with least square means of body composition, we kept only the 8 values of body composition or hematocrit that matched with the 8 values of metabolic performance over time. Because the least square means used came from our mixed-effect models, they were all controlled for repeated measures (bird ID). Moreover, for lean, fat and total  $M_b$  and muscle thickness, least square means were controlled for structural body size while muscle thickness was also controlled for keel height. For metabolic performance we used mass-independent  $M_{\text{sum}}$  and mass-independent BMR.

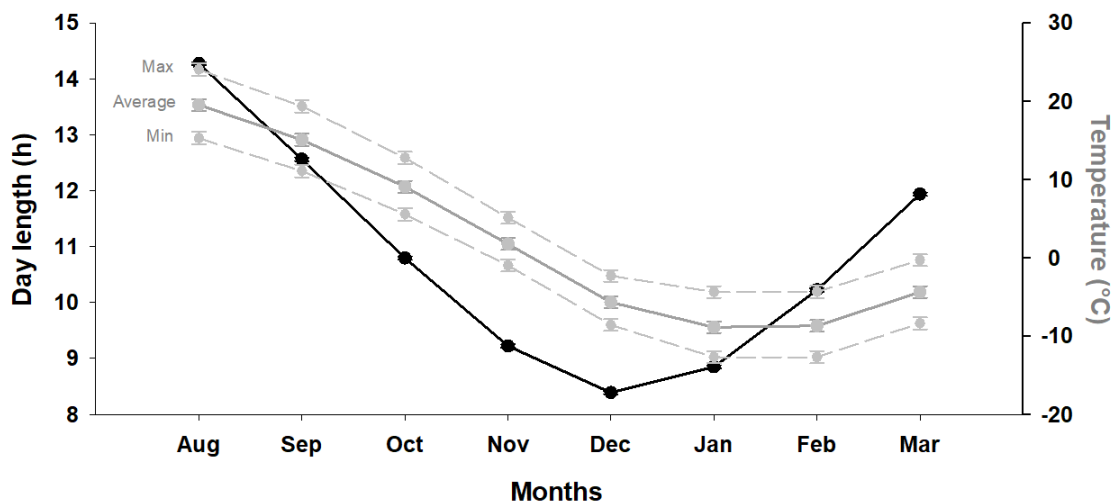
Normality of residuals was confirmed visually for all models. All analyses were conducted using JMP pro (12.0.1) and data are presented as mean  $\pm$  SEM. Post-hoc independent contrast analyses were used to investigate differences between selected months.

## 1.5 RESULTS

### 1.5.1 Intra-seasonal variation on abiotic parameters and phenotypic traits

#### 1.5.1.1 Temperature and day length

Over the course of the experiment, birds were exposed to mean daily  $T_a$  below  $0^\circ\text{C}$  from December to March (Figure 1.1) and  $T_a$  reached its coldest values in January ( $T_a$  average:  $-8.9 \pm 0.7^\circ\text{C}$ ,  $T_a$  min:  $-12.7 \pm 0.8^\circ\text{C}$ ). However, February was just as cold, with less than a  $1^\circ\text{C}$  difference ( $T_a$  average:  $-8.7 \pm 0.7^\circ\text{C}$ ,  $T_a$  min:  $-12.7 \pm 0.8^\circ\text{C}$ ). In August, mean  $T_a$  averaged  $19.5 \pm 0.8^\circ\text{C}$  ( $T_a$  min:  $15.3 \pm 0.8^\circ\text{C}$ ). Day length decreased by 5.8h between August (14.3h) and December to reach the shortest day in December (8.4h) before increasing by 3.6h between December and March (11.9h).



**Figure 1.1** Variation in mean, minimum and maximum temperatures and in day length experienced by outdoor captive snow buntings in Rimouski, Québec, Canada from 2013 to 2018.



### 1.5.1.2 Body composition and oxygen carrying capacity

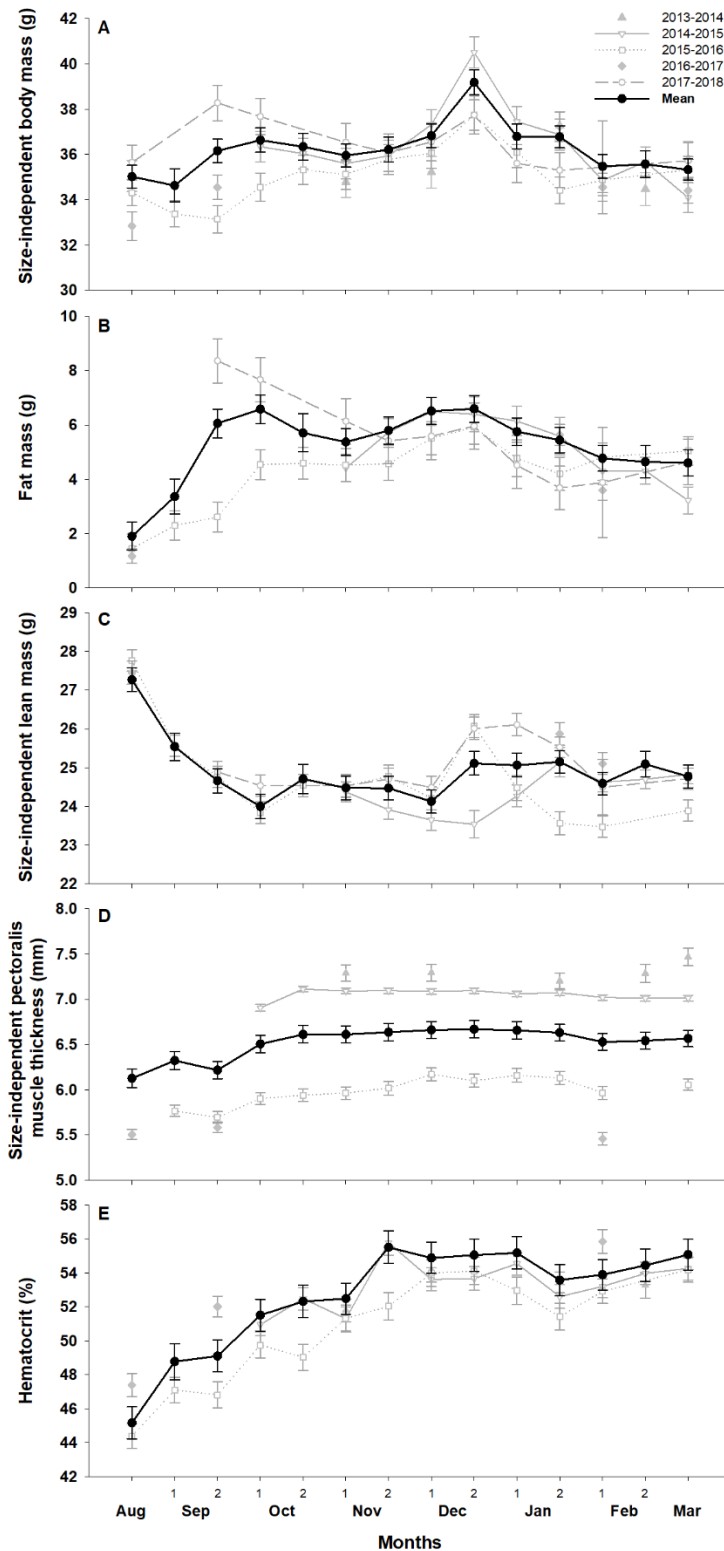
Size-independent  $M_b$  (body size:  $F_{1,91} = 10.7$ ,  $P < 0.005$ ) varied over time (month:  $F_{13,810} = 10.1$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 1.2A). In early September, birds had a mass comparable to that observed in summer (contrast: Aug vs Sept-1:  $P = 0.5$ ). Body mass then gradually increased until it culminated in late December at a level 13.2% higher than that in early September (contrast: Sept-1 vs Dec-2:  $F_{1,798} = 44.3$ ,  $P < 0.0001$ ). Past this peak, size-independent  $M_b$  declined gradually to reach levels in March that were indistinguishable from those recorded in August (contrast: Aug vs Mar:  $P = 0.4$ ) or early September (contrast: Sept-1 vs Mar:  $P = 0.3$ ).

Temporal variation in body fat showed a different pattern than for  $M_b$  (month:  $F_{13,591} = 13.0$ ,  $P < 0.0001$ ; no influence of body size  $P = 0.40$ , Figure 1.2B). Indeed, from  $1.90 \pm 0.51$ g in August, fat mass increased by 246.5% to reach  $6.58 \pm 0.53$ g in October (contrast: Aug vs Oct-1:  $F_{1,499} = 88.4$ ,  $P < 0.0001$ ). Body fat then remained relatively stable for the remainder of winter (contrast: Oct-1 vs Jan-1 :  $P = 0.06$ ) before starting to decline in January down to  $4.60 \pm 0.48$ g in March, a level 30.3% lower than December (contrast: Mar vs Dec-2:  $F_{1,607} = 26.0$ ,  $P < 0.0001$ ), but still 142.2% higher than in summer (contrast: Mar vs Aug:  $F_{1,441} = 34.9$ ,  $P < 0.0001$ ).

Size-independent lean mass (body size:  $F_{1,63} = 15.3$ ,  $P < 0.0005$ ) showed an opposite pattern to fat (month:  $F_{13,592} = 26.5$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 1.2C). Lean mass was high in August ( $27.27 \pm 0.31$ g) and decreased to reach a value 12% lower ( $24.0 \pm 0.32$ g) in October (contrast: Aug vs Oct-1:  $F_{1,593} = 213.4$ ,  $P < 0.0001$ ). Then, lean mass gradually increased throughout winter to plateau between late December and March (contrast: Dec-2 vs Jan-1 – Mar:  $P = 0.2$ ) to an average level ( $24.96 \pm 0.09$ g) 8.5% lower than in summer (contrast: Aug vs Dec-2 – Mar:  $F_{1,587} = 184.4$ ,  $P < 0.0001$ ). Lean mass in January and February was nevertheless 4.1% higher than in early October (contrast: Oct-1 vs Jan-1 – Feb-2:  $F_{1,595} = 31.4$ ,  $P < 0.0001$ ).

Size-independent pectoralis muscle thickness (body size:  $F_{1,57} = 5.5$ ,  $P < 0.05$ ) also varied over time (month:  $F_{13,525} = 10.5$ ,  $P < 0.0001$ , keel height:  $F_{1,522} = 1325.3$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 1.2D). Muscle thickness was  $6.1 \pm 0.1$ mm in August and gradually increased by 7.9%, reaching  $6.6 \pm 0.1$ mm by late October (contrast: Aug vs Oct-2:  $F_{1,519} = 46.4$ ,  $P < 0.0001$ ). Muscles then remained at that level for the rest of winter (contrast: Oct-2 vs Nov-1 – Mar:  $P = 0.1$ ).

Hematocrit increased (month:  $F_{13,560} = 38.8$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 1.2E) from  $45.2 \pm 0.95\%$  in August to  $55.5 \pm 0.97\%$  in late November (contrast: Aug vs Nov-2:  $F_{1,553} = 251.2$ ,  $P < 0.0001$ ) and remained relatively high (at  $54.7 \pm 0.2\%$  on average) until March (contrast: Nov-2 vs Mar:  $P = 0.5$ ).



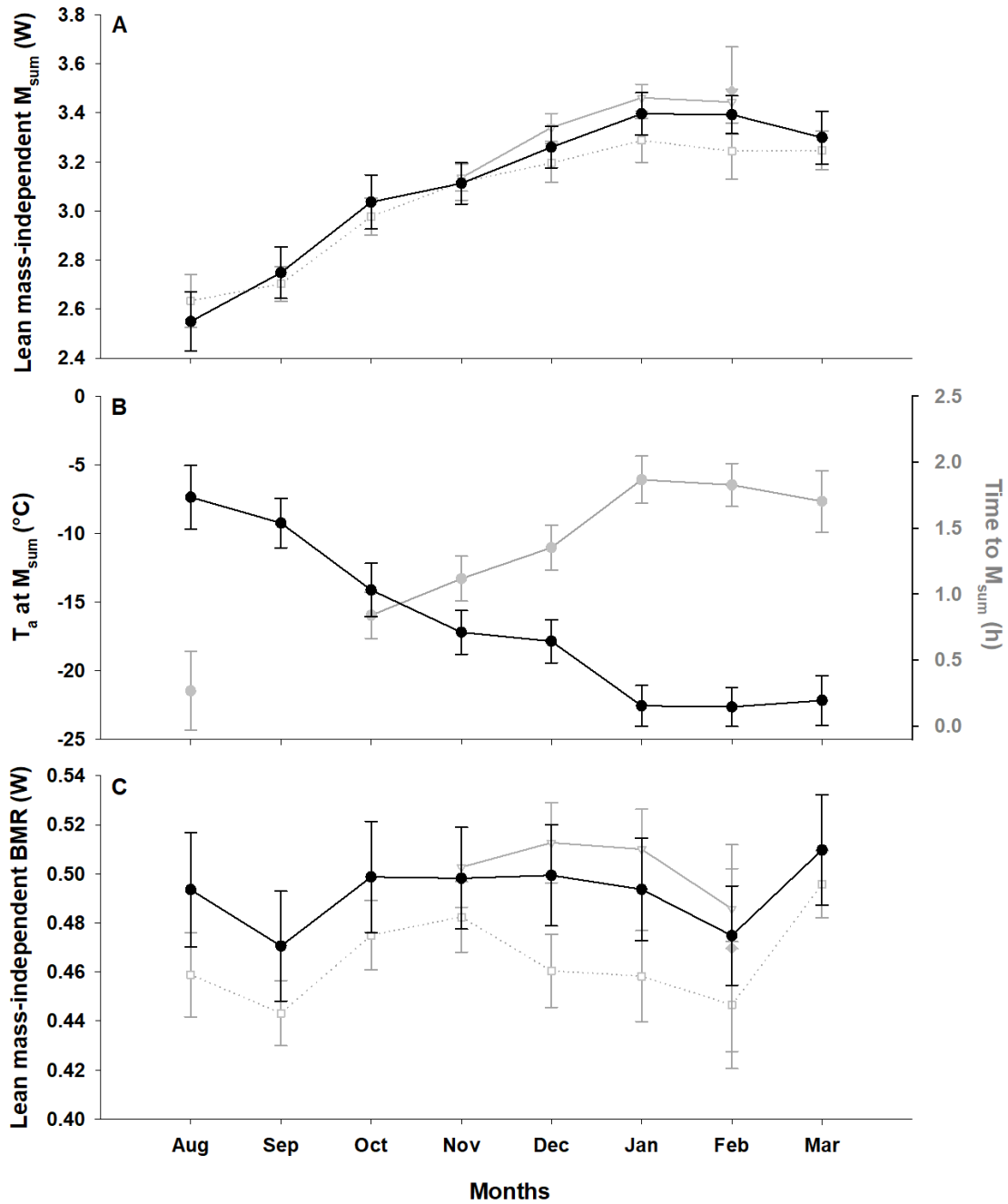
**Figure 1.2** Intra-seasonal variation in body composition and hematocrit over five years in outdoor captive snow buntings. Data are least square means ( $\pm$  SEM) by month for body mass (A), fat mass (B), lean mass (C), pectoralis muscle thickness (D) and hematocrit (E). Least square means were obtained from a mixed GLM controlling for month with year and bird ID as random parameters. Least square means in A, C and D also control for structural body size (not significant for fat mass) and, in D, for keel length. Least square means per year (gray) were obtained from a mixed GLM controlling for the same parameters except year.

### 1.5.1.3 Metabolic performance

Summit metabolic rate ( $M_{\text{sum}}$ ), whether considered whole or mass-independent, varied significantly over time (whole: month  $F_{7,248} = 10.8$ ,  $P < 0.0001$ ; mass-independent: month  $F_{7,160} = 13.5$ ,  $P < 0.0001$ ; mass  $F_{1,190} = 20.9$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 1.3A). It increased gradually to reach its maximal level in February ( $M_{\text{sum}}$ : +26.6% September to February, contrast:  $F_{1,189} = 33.9$ ,  $P < 0.0001$ ) or January-February (mass-independent  $M_{\text{sum}}$ : +33.1% August to January-February, contrast:  $F_{1,177} = 59.7$ ,  $P < 0.0001$ , no difference between January and February, contrast:  $P = 0.95$ ). The model using lean mass as a covariate explained more of the variation in  $M_{\text{sum}}$  (model  $r^2 = 0.68$ ) than the one without (model  $r^2 = 0.48$ ).

Time to  $M_{\text{sum}}$  varied over time (month:  $F_{6,171} = 21.5$ ,  $P < 0.0001$ ; mass:  $P = 0.3$ ; Figure 1.3B). It increased progressively to stabilize between January and March (contrast: Aug vs Jan:  $F_{1,165} = 33.9$ ,  $P < 0.0001$ , no difference between Jan and Mar:  $P = 0.42$ ). As cold hardiness improved, birds took twice as long to reach their  $M_{\text{sum}}$  ( $1.8 \pm 0.05\text{h}$ ) in January-March compared to August ( $0.3 \pm 0.3\text{h}$ ).  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$  also varied over the winter (month:  $F_{7,1425} = 17.8$ ,  $P < 0.0001$ ; mass:  $P = 0.06$ ). Between January and March (contrast: Jan vs Mar:  $P = 0.80$ ), birds reached their  $M_{\text{sum}}$  at  $-22.5 \pm 0.01^\circ\text{C}$  in a helox environment, compared to  $-8.3 \pm 0.9^\circ\text{C}$  in August-September (contrast: Aug – Sept vs Jan – Mar:  $F_{1,137} = 108$ ,  $P < 0.0001$ ).

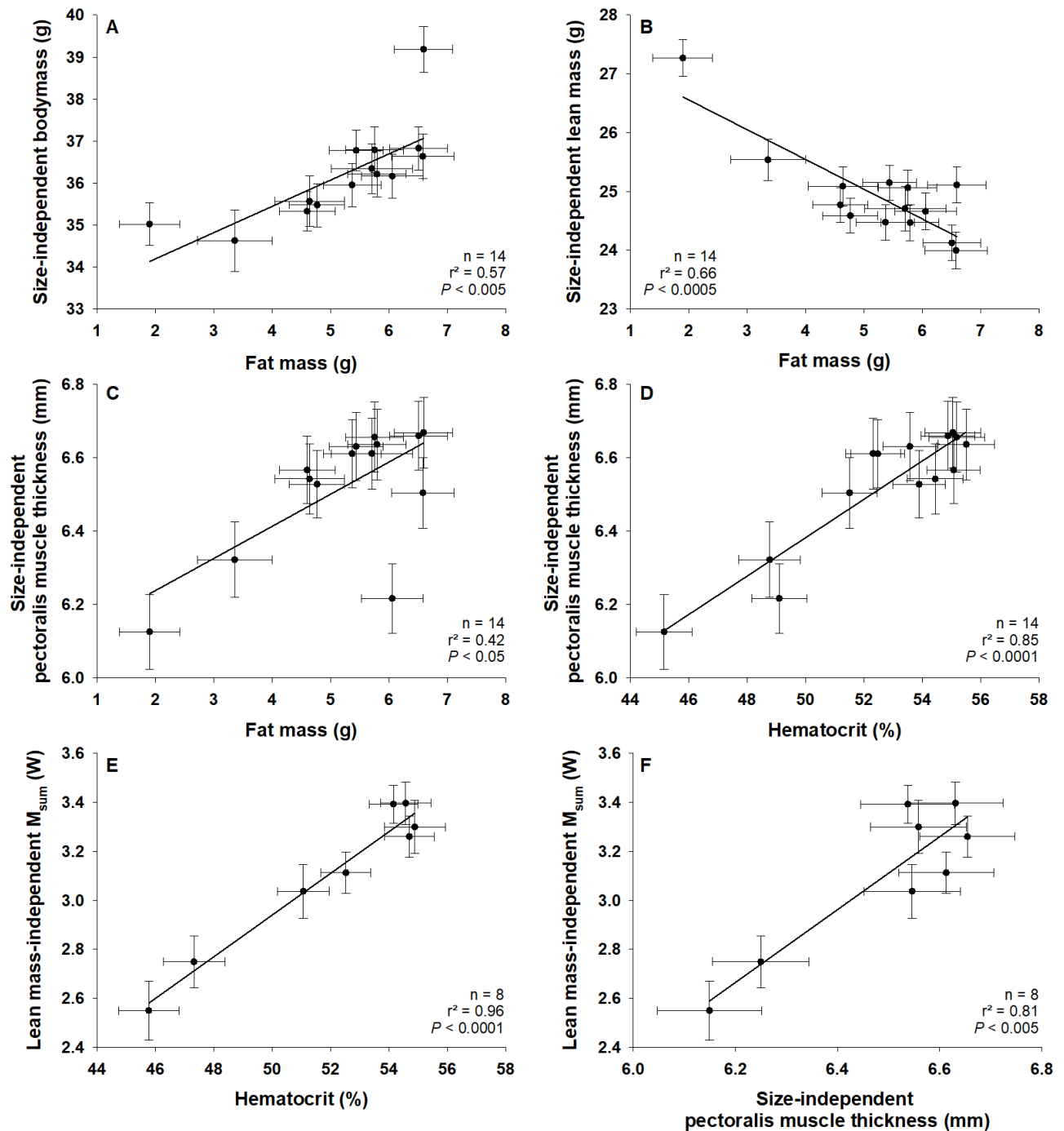
As for  $M_{\text{sum}}$ , BMR considered whole or mass-independent also varied over time (whole: month  $F_{7,287} = 3.3$ ,  $P < 0.005$ ; mass-independent: month  $F_{7,154} = 2.3$ ,  $P < 0.05$ ; mass  $F_{1,204} = 17.6$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 1.3C). However, the pattern was unclear as BMR remained largely stable throughout winter with lower values detectable in September and February albeit these differences being significant only for whole BMR (contrast between August ( $0.53 \pm 0.02\text{W}$ ) and September ( $0.48 \pm 0.02\text{W}$ ):  $F_{1,260} = 10.1$ ,  $P < 0.005$  and between August and February ( $0.48 \pm 0.02\text{W}$ ):  $F_{1,271} = 14.2$ ,  $P < 0.0005$ ). For lean mass-independent BMR, the only significant difference was that observed between February and March ( $F_{1,182} = 5.3$ ,  $P < 0.05$ ). Here again the model including lean mass as a covariate explained more of the variation in BMR (model  $r^2 = 0.67$ ) than the model without (model  $r^2 = 0.49$ ).



**Figure 1.3** Intra-seasonal variation in metabolic performance over five years in outdoor captive snow buntings. Data are least square means ( $\pm$  SEM) by month for  $M_{sum}$  (A), time to  $M_{sum}$  and  $T_a$  at  $M_{sum}$  (B) as well as BMR (C). Least square means were obtained from a mixed GLM controlling for month and lean body mass for all parameters (lean mass not significant for  $T_a$  at  $M_{sum}$  and time to  $M_{sum}$ ) with year and bird ID as random parameters. Least square means per year (gray) were obtained from a mixed GLM controlling for the same parameters except year.

#### 1.5.1.4 Relationships between phenotypic traits

Comparing monthly average values in regression analyses revealed that most of the seasonal variation in total  $M_b$  was explained by variation in body fat ( $n = 14$ ,  $r^2 = 0.57$ ,  $P < 0.005$ ; Figure 1.4A, no significant relationship between total mass and lean mass  $P = 0.3$ ). Interestingly, our results also showed a relatively strong negative relationship between lean and fat components of  $M_b$  over the season ( $n = 14$ ,  $r^2 = 0.66$ ,  $P < 0.0005$ ; Figure 1.4B), where birds carried less lean mass when they were at their fattest (see also Figures 1.2B, 1.2C). Our results further indicated that in months where birds were at their fattest, pectoralis muscles were large ( $n = 14$ ,  $r^2 = 0.42$ ,  $P < 0.05$ ; Figure 1.4C) and large muscles were associated with higher oxygen carrying capacity ( $n = 14$ ,  $r^2 = 0.85$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 1.4D). Average monthly variation in hematocrit was also strongly positively associated with monthly variation in lean mass-independent  $M_{sum}$  ( $n = 8$ ,  $r^2 = 0.96$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 1.4E). Our analyses further revealed a significant relationship between size independent-pectoralis muscles thickness and lean mass-independent  $M_{sum}$  ( $n = 8$ ,  $r^2 = 0.81$ ,  $P < 0.005$ ; Figure 1.4F). There were no correlations between lean mass-independent BMR and lean mass-independent  $M_{sum}$  ( $P = 0.6$ ) and between whole BMR and lean mass ( $P = 0.5$ ).



**Figure 1.4** Relationships between phenotypic traits in outdoor captive snow buntings. Presented are results of regression analyses testing for relationships between body mass and fat mass (A), lean mass and fat mass (B), pectoralis muscle thickness and fat mass (C), pectoralis muscle thickness and hematocrit (D),  $M_{sum}$  and hematocrit (E) and  $M_{sum}$  and pectoralis muscle thickness (F). Values are monthly least square means ( $\pm$  SEM) generated by our mixed effect models and are based on the period from August to March.

## 1.6 DISCUSSION

This is the first longitudinal multi-year study to present phenotypic adjustments in a northern cold-specialized species exposed to seasonal temperature variation typical of temperate-zone climates. Snow buntings showed flexibility in functions underlying thermogenic capacity and cold endurance comparable to that observed in temperate resident passerines (Dawson & Marsh, 1986; Petit, Lewden, & Vézina, 2013; Swanson & Olmstead, 1999). Specifically,  $M_b$ , fat mass, pectoralis muscle thickness and hematocrit increased from summer to winter. Maximal thermogenic capacity ( $M_{sum}$ ) and cold endurance (time to  $M_{sum}$ ) were also at their highest during the coldest months, when birds reached their  $M_{sum}$  at the coldest temperatures. However, in contrast with previous studies on resident species at this latitude (Petit, Lewden, & Vézina, 2013, 2014), lean body mass declined as the birds gained mass, and BMR showed no clear pattern, remaining relatively stable throughout winter.

### 1.6.1 Changes in body composition through time

Our data show that snow buntings maintained heavier  $M_b$  in winter than in summer, a finding also common in passerines wintering at both temperate and northern latitudes (e.g., Brooks, 1968; Carey et al., 1978; Liknes & Swanson, 1996; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; White & West, 1977; Zheng et al., 2008). The birds increased their  $M_b$  by 13.2% from early September to late December and this mass gain, primarily driven by body fat (Figure 1.4A), falls in the 9-22% range reported for northern resident species (Barnett, 1970; Pohl, 1971; Pohl & West, 1973; Sharbaugh, 2001). Interestingly,  $M_b$  was highest in late December. Although this month is not the coldest of winter, it is the month with the shortest days (Figure 1.1). This finding corroborates a recent report by Laplante et al. (2019) who observed a negative relationship between  $M_b$  and day length in wild wintering snow buntings, suggesting that these birds maintain larger fat reserves as an energy buffer when feeding time is limited.

Small wintering birds accumulate fat to sustain longer and colder nighttime fasting periods and to provide emergency reserves during low food availability (Blem, 1976; Gosler, 1996; Lehikoinen, 1987; Marsh & Dawson, 1989; O'Connor, 1995). Snow buntings exhibited a rapid increase (nearly 250%) in fat mass between August and October and then



remained relatively stable until late December, after which fat mass gradually declined. This pattern contrasts with other species, where fat increases gradually and peaks during the coldest periods of winter (Brooks, 1968; Dawson & Marsh, 1986; Evans, 1969; White & West, 1977). However, it is important to note that our findings appear largely driven by an early increase in fat mass in one of two years. During 2015-2016, birds exhibited the expected gain in fat, whereas in 2017-2018 birds already had large reserves in late September. The reasons for this difference are unknown and cannot simply be explained by differences in  $T_a$  because adding mean  $T_a$  for the days of measure in the models showed no significant influence of  $T_a$  and did not change the findings. Declining levels of fat during the peak of cold in January and February have also been seen in other resident species (Brooks, 1968; Carey et al., 1978; P. R. Evans, 1969; C. M. White & West, 1977) and are consistent with the lower fat scores reported by Laplante et al. (2019) during the coldest days of winter in free-living snow buntings. As suggested by Mandin & Vézina (2012), this could result from thermoregulatory requirements forcing birds to consume a greater part of their daily energy intake, potentially limiting their capacity to accumulate or maintain fat reserves.

Avian cold acclimatization or acclimation is typically associated with size increases in several internal organs, including cardiopulmonary organs, skeletal muscles and nutritional organs (e.g., Barceló, Love, & Vézina, 2017; Liknes & Swanson, 2011; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Zheng et al., 2008). Although we could not study body composition at the organ level, we did monitor individual changes in lean mass. Counter to predictions, lean mass declined rapidly between August and October before leveling and then increasing in late December to reach a plateau for the rest of winter. These data partially conform to the pattern reported in other passerines where lean mass increases in winter (Chaplin, 1974; Dawson & Marsh, 1986; Petit, Lewden, & Vézina, 2014), potentially as a result of higher food intake and, consequently, larger digestive and excretory organs (e.g., Barceló, Love, & Vézina, 2017; Liknes & Swanson, 2011; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Zheng et al., 2008). However, the causes for the rapid loss of lean mass in the fall are not known.

We found that snow buntings increased the size of their pectoralis muscles from August to October and maintained it for the rest of winter. Although inter-seasonal variation in muscle size has never been studied at comparable temporal scales in passerines, several studies have reported increases in flight muscles mass between summer and winter (e.g., Cooper, 2002; Liknes & Swanson, 2011; Petit & Vézina, 2014a; Swanson, 1991; Swanson & Merkord, 2012). This is often interpreted as an adjustment to improve shivering heat production (Liknes & Swanson, 2011; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Swanson, 1991b) because  $M_{\text{sum}}$  is typically correlated with muscle mass or size (Cooper, 2002; O'Connor, 1995; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Swanson, 1991b, but see Milbergue, Blier, & Vézina, 2018), including in buntings (Dubois, Hallot, & Vézina, 2016, this study). However, in the current case, pectoralis muscle size stabilized much earlier than peak  $M_{\text{sum}}$  (Figures 1.2D, 1.3A). Given the relationship between monthly averaged muscle thickness and body fat (Figure 1.4C), the early fall increase in flight muscle size could also reflect compensation for an increasing  $M_b$  to maintain flight capacity (Dietz et al., 2007; Lindström et al., 2000; McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; Pennycuik, 1975; Petit & Vézina, 2014a). Alternatively, because lipids are the main fuel supporting shivering thermogenesis (Vaillancourt et al., 2005), thicker muscles in wintering buntings could also partly result from larger cellular fat storage within the muscle tissue itself (Carter et al., 2019; Ramenofsky et al., 2017). Consistent with this latter argument is the obvious difference in muscle thickness between years, wherein birds carried 5% more fat and had thicker muscles in 2014-2015 compared with 2015-2016 (Figure 1.2). This could also explain why muscle thickness (which should mainly consist of lean tissue) increased while total lean mass decreased (compare Figure 1.2D with Figure 1.2C).

## **1.6.2 Changes in metabolic performance through time**

### **1.6.2.1 Summit metabolic rate ( $M_{\text{sum}}$ ) and $T_a$ at $M_{\text{sum}}$**

The observed gradual increase in  $M_{\text{sum}}$ , and the 27-33% higher values measured during the coldest time of the year (February), are very similar in pattern and values (29-34%) to that reported for resident black-capped chickadees wintering less than 22 Km away

from our captive population (Petit, Lewden, & Vézina, 2013, 2014). It also compares with observations in other resident species living at temperate (McKechnie, Noakes, & Smit, 2015) and Arctic latitudes (Seppo Saarela, Klapper, & Heldmaier, 1995). As suggested by Petit, Lewden, & Vézina (2013), the observed gradual adjustments in thermogenic capacity beginning very early in the fall (September) and culminating at the peak of winter could reflect a continuous response to increasingly colder temperatures. Adjusting  $M_{\text{sum}}$  early and well ahead of peak winter conditions could be necessary if this trait responds slowly to changes in temperature (Dubois, Hallot, & Vézina, 2016; Petit & Vézina, 2014a).

The adjustments in  $M_{\text{sum}}$  were paralleled by a gradual increase in time to  $M_{\text{sum}}$  and by a decline in  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$ . Together, these results indicate that snow buntings were able to generate more heat at the peak of winter, thereby increasing their cold tolerance (Swanson, 2010). In January, the mean helox  $T_a$  eliciting maximal heat production in these birds was  $-22.2 \pm 1.1^\circ\text{C}$ . This is similar to that reported by Vézina et al. (2006) in cold acclimated red knots (*Calidris canutus islandica*), a shorebird species more than 3 times heavier. This is also  $8^\circ\text{C}$  and  $11^\circ\text{C}$  colder than the temperature at cold limit (helox  $T_a$  marking the beginning of decline in oxygen consumption following  $M_{\text{sum}}$ ) reported by Swanson & Liknes (2006) in horned larks (*Eremophila alpestris*;  $\approx 35.4 \pm 2.7\text{g}$ ) and northern cardinals (*Cardinalus cardinalis*;  $\approx 48.3 \pm 3.6\text{g}$ ), respectively. Although  $M_{\text{sum}}$  is measured under maximum  $\dot{V}O_2$  conditions, and birds likely do not operate at this level in the wild, these results clearly demonstrate that snow buntings are extreme cold specialists. Indeed, using mean conductance values from outdoor captive snow buntings measured in atmospheric air during winter (J. Drolet et al. unpubl. data), we estimated that the air  $T_a$  required to elicit the February level of  $M_{\text{sum}}$  in snow buntings would be  $-93.6 \pm 6.4^\circ\text{C}$ .

#### 1.6.2.2 Oxygen carrying capacity and $M_{\text{sum}}$

Higher hematocrit levels in winter appear to be a common phenomenon in birds (e.g., Buehler et al., 2012; DeGraw, Kern, & King, 1979; Pap et al., 2010; Piersma et al., 2000), and at the individual level, oxygen carrying capacity has been shown to correlate positively

with  $M_{\text{sum}}$  (Petit, Clavijo-Baquet, & Vézina, 2017; Petit & Vézina, 2014a; Swanson, 1990b). Accordingly, monthly average analyses revealed a close and positive association between hematocrit and lean mass-independent  $M_{\text{sum}}$  (Figure 1.4E), suggesting that buntings meet the increased oxygen requirements associated with high thermogenic capacity, in part, through an increase in hematocrit. Interestingly, as correcting  $M_{\text{sum}}$  for lean body mass should also partly control for the influence of skeletal muscle mass on  $M_{\text{sum}}$  (Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011), this finding further suggests a link between oxygen delivery and metabolic intensity at the cellular level during active shivering.

### 1.6.2.3 Basal Metabolic Rate

Small-bodied species experiencing marked seasonal weather changes typically exhibit an increase in BMR during the cold season (Cooper & Swanson, 1994; Liknes & Swanson, 1996; Pohl & West, 1973; Zheng et al., 2008), and this can reach considerable levels (e.g., 64% in house sparrows; Arens & Cooper, 2005). In our study, BMR showed no clear seasonal patterns although some monthly variation could be detected in whole-animal values. This suggests that maintenance costs in wintering buntings remain seasonally stable. Similar patterns have also been observed in northern resident species (e.g., willow tits, [Reinertsen & Haftorn, 1983]; siskins [*Spinus spinus*, Saarela, Klapper, & Heldmaier, 1995]). Sharbaugh (2001), for instance, reported no seasonal variation in resting metabolic rate measured at 25°C in Alaskan (64°N) black-capped chickadees.

King & Farner (1961), and more recently Swanson, McKechnie, & Vézina, (2017), argued that there is no adaptive advantage for animals to increase BMR. Instead, a high BMR, as seen in species wintering in cold conditions, could result from upregulated functions required to maintain thermogenic capacities and balanced energy budgets under constraining environments. In wintering birds coping with high thermoregulatory requirements, energy conservation is paramount to minimize environmental effects on energy budgets (e.g., Reinertsen, 1996). One way to reduce maintenance costs during the winter would be to decrease or minimize the amount of metabolically active lean mass (e.g., the rapid decline observed in the fall in our buntings). However, this may not be the only solution for buntings

because whole-animal BMR and lean mass were not correlated when comparing monthly average patterns. Alternatively, changes in metabolic intensity (e.g., i.e., downregulation) at the cellular level could also contribute to energy economy, and this could uncouple relationships between maintenance costs and lean mass (Milbergue, Blier, & Vézina, 2018). Given the notable increase in  $M_{\text{sum}}$  observed in this study, it appears that snow buntings may be particularly efficient at minimizing the effect of winter on their maintenance costs.

### 1.6.3 Conclusion

In this investigation we have shown that the snow bunting, a circumpolar passerine species living in the cold most of its life, exhibits considerable changes in several phenotypic traits when exposed to seasonal temperate-zone temperature variation. Our results therefore suggest that flexibility in traits associated with thermal acclimatization in cold-adapted northern species is comparable to that of temperate resident species living at lower latitudes and is therefore not constrained by life in near constant cold.

Our data also shows that buntings have remarkable capacities to endure cold environments (e.g.,  $M_{\text{sum}}$  reached at a  $T_a$  equivalent to  $-94^{\circ}\text{C}$  during the coldest months), while potentially minimizing the impact of life in these environments on maintenance costs (no seasonal increase in BMR). These phenotypic adaptations are consistent with snow buntings being extreme cold specialists capable of maximizing performance across multiple life history stages under consistently cold conditions. More research is needed however to uncover the physiological mechanisms that allow buntings to managing the “worst of both worlds” across migration, breeding and wintering. Importantly, determining these underlying mechanisms will aid in predicting whether this cold-specialist can cope with the increasing  $T_a$  forecast in its Arctic home.

### Acknowledgments

We thank Claire Bottini, Polan-Devi Darboven, Justine Drolet, Alexandre Paiement, Kim Régimbald Bélanger, and Charles Richard for their help in catching birds in the wild. We

also thank Yann Bouchez, Sandrine Gingras, Sarah Piedalue, Jolanie Roy, Gabrielle Roy, and Cécile Vansteenberghé for their punctual help in measuring body composition monthly and Claire Bottini for participating in ultrasound measurements. We are also grateful to Jonathan Coudé for technical support, Alain Caron for statistical advice, and Josianne Ruest for help with bird maintenance. This research benefited from a generous donation from the Kenneth M. Molson Foundation. It was also supported by Natural Sciences and Engineering Research Council Discovery grants to F.V. and O.P.L., Canada Foundation for Innovation awards to F.V. and O.P.L., and Canada Research Chair funding to O.P.L.

# CHAPITRE 2

---

**FAIRE FACE AU PIRE DES DEUX MONDES :  
LES AJUSTEMENTS PHÉNOTYPIQUES POUR L'ACCLIMATATION  
AU FROID FAVORISENT LA MIGRATION VERS LE NORD ET  
L'ARRIVÉE DANS LE FROID CHEZ UN PASSEREAU  
REPRODUCTEUR DE L'ARCTIQUE**



**Coping with the worst of both worlds: phenotypic adjustments for cold  
acclimatization benefit northward migration and arrival in the cold in an Arctic-  
breeding songbird**

Audrey Le Pogam<sup>1,2</sup>, Ryan S. O'Connor<sup>1,2</sup>, Oliver P. Love<sup>3</sup>, Magali Petit<sup>1,2</sup>, Lyette

Régimbald<sup>1</sup>, François Vézina<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec à Rimouski,  
Rimouski, QC, Canada*

<sup>2</sup> *Groupe de recherche sur les environnements nordiques BORÉAS, Centre d'Études  
Nordiques, Centre de la Science de la Biodiversité du Québec, Rimouski, QC, Canada*

<sup>3</sup> *Department of Integrative Biology, University of Windsor, Windsor, ON, Canada*

**Publication :** Mars 2021 dans *Functional Ecology* 35(6), 1240-1254

**Contributions :** Conception de l'étude et élaboration de la méthodologie : ALP, FV ;  
Récolte des données : ALP, LR, MP ; Analyse des données : ALP ; Financement : FV, OPL ;  
Rédaction : ALP, RSO, FV, OPL, Tous les auteurs ont contribué de manière critique au projet  
et ont donné leur approbation finale pour la publication.

**Communications :** Une version abrégée de cet article a été présentée lors des conférences  
suivantes :

2019 : Poster - *International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry*, Ottawa, ON

2018 : Oral - *Regroupement Étudiants de Vulgarisation Scientifique*, Rimouski, QC

2017 : Oral - *Centre d'Études Nordiques*, Québec, QC

Poster - *Society for Integrative and Comparative Biology*, Nouvelle Orléans, LA, USA

2016 : Oral - *Société Québécoise pour l'Étude Biologique du Comportement*, Rimouski, QC

Poster - *Centre d'Études Nordiques*, Trois-Rivières, QC - **Prix de la meilleure affiche**



## 2.1 RÉSUMÉ

L'acclimatation au froid (ajustements phénotypiques requis pour affronter des conditions environnementales froides) est un impératif pour les oiseaux vivant dans les hautes latitudes durant les mois les plus froids de l'hiver. Malgré le remodelage important des principaux paramètres phénotypiques et les coûts énergétiques associés à l'augmentation de l'endurance au froid, l'acclimatation au froid hivernal pourrait apporter des avantages supplémentaires lors des stades d'histoire de vie ultérieurs comme la migration et la reproduction en conditions froides (p. ex., l'Arctique). Nous avons testé cette hypothèse d'effets bénéfiques reportés chez des plectrophanes des neiges (*Plectrophenax nivalis*) en captivité. Ce passereau de l'Arctique est un spécialiste du froid connu pour son impressionnante capacité thermogénique durant l'hiver. Nous avons donc comparé les changements des traits phénotypiques favorisant l'acclimatation au froid - composition corporelle (masse corporelle, lipidique et maigre et épaisseur des muscles pectoraux), capacité de transport de l'oxygène (hématocrite), capacité thermogénique et endurance au froid ( $M_{sum}$ , durée jusqu'au  $M_{sum}$ ), tolérance au froid ( $T_a$  au  $M_{sum}$ ) et taux métabolique de base (BMR) – au cours des stades correspondant à l'hiver, la migration printanière et l'arrivée/été. La masse corporelle (+31%), la masse lipidique (+226%) et le BMR (+13%) ont augmenté par rapport au phénotype hivernal, probablement en support à la migration, ce qui est en accord avec *l'hypothèse de la régulation positive pour la migration*. En revanche, la masse maigre, l'épaisseur des muscles pectoraux, l'hématocrite et la capacité thermogénique sont restés élevés et stables au niveau hivernal, indépendamment du stade d'histoire de vie, ce qui soutient *l'hypothèse de la capacité thermogénique reportée*. Le maintien de ces traits phénotypiques hivernaux offre certainement une capacité de réserve pour affronter les environnements froids et imprévisibles auxquels peuvent être confrontés ces oiseaux pendant la migration et la reproduction dans l'Arctique. Nos résultats suggèrent donc que les oiseaux peuvent prolonger les avantages à long terme des ajustements phénotypiques hivernaux par des avantages supplémentaires en termes de capacité thermogénique au cours des étapes ultérieures du cycle de vie. Ces avantages permettent probablement aux oiseaux nichant dans l'Arctique de maximiser leur succès à travers les différents stades d'histoire de vie dans des conditions de froid extrême.

**Mots clés :** *Acclimatation au froid, BMR, Engraissement, Hématocrite, Masse maigre, Migration,  $M_{sum}$ , Plectrophane des neiges*

## 2.2 ABSTRACT

Cold acclimatization (phenotypic adjustments to cope with cold conditions) is an imperative requirement for birds living at high latitudes during the cold depths of winter. Despite the significant remodelling of key phenotypic traits and energetic costs associated with elevating cold endurance, winter cold acclimatization can also provide further carryover benefits to subsequent stages in species wintering, migrating and breeding in cold environments (e.g., the Arctic). We tested this beneficial carryover hypothesis using outdoor captive Arctic-breeding snow buntings (*Plectrophenax nivalis*), a cold specialist known for its impressive wintering thermogenic capabilities. We compared changes in phenotypic traits supporting cold acclimatization – body composition (body, fat, lean mass, pectoral muscle thickness), oxygen carrying capacity (hematocrit), thermogenic capacity and endurance ( $M_{sum}$ , time to  $M_{sum}$ ), cold tolerance ( $T_a$  at  $M_{sum}$ ) and maintenance energy expenditure (BMR) – between the wintering, migratory and arrival/summer stages. Body mass (+31%), fat mass (+226%), and BMR (+13%) increased relative to the winter phenotype, likely to support the added costs of migration - that is the *migratory upregulation hypothesis*. In contrast, lean mass, pectoral muscle thickness, hematocrit and thermogenic capacity remained high and stable at winter level across stages in support of the *thermal carryover hypothesis*. The maintenance of these traits likely offers spare capacity for unpredictable cold environments expected during migration and breeding in the Arctic. Our results thus suggest that birds can extend the long-term advantages of winter phenotypic adjustments through additional benefits to thermogenic capacity during subsequent life history stages. These benefits likely make it possible for Arctic-breeding birds to maximize success across diverse life history stages in the face of extreme cold conditions.

**Key words :** *Cold acclimatization, BMR, Fattening, Hematocrit, Lean mass, Migration,  $M_{sum}$ , Snow bunting*

### 2.3 INTRODUCTION

Organisms often face trade-offs within and across life history stages, wherein they must allocate time and resources towards phenotypic adjustments that are best suited for current environmental demands, while avoiding negative long term effects onto future stages (Harrison et al., 2011). For temperate bird species, two life history stages that are particularly energetically demanding, and require significant phenotypic adjustments, are wintering in the cold (Cooper & Swanson, 1994; Dawson et al., 1983; Petit, Lewden, & Vézina, 2013) and subsequent migration (Alerstam & Lindström, 1990; Berthold, Gwinner, & Sonnenschein, 2003; Blem, 1980). Although these two stages are often viewed as mutually exclusive, birds can exhibit similar trait adjustments in support of these highly active phenotypes. Firstly, both depend on substantial aerobic endurance (Dawson, Marsh, & Yacoe, 1983), higher oxygen carrying capacities (Chilgren & DeGraw, 1977; Krause, Németh, et al., 2016) associated with developed cardiopulmonary organs and flight muscles (e.g., Battley & Piersma, 1997; Dietz et al., 2007; Liknes & Swanson, 2011; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Piersma, Gudmundsson, & Lilliendahl, 1999), as well as increases in maximal shivering heat production during cold acclimatization (i.e., summit metabolic rate,  $M_{sum}$ ; Petit, Clavijo-Baquet, & Vézina, 2017; Petit & Vézina, 2014a; Swanson, Zhang, & King, 2013) and peak effort endurance for migration (i.e., maximum metabolic rate, MMR; Chappell, Bech, & Buttemer, 1999; Klaassen, Kvist, & Lindström, 2000; Piersma, 2011). Secondly, both stages are characterized by periods of positive energy budget that enable the accumulation of fat stores as the main source of fuel for prolonged shivering and long-distance flights (Dawson, Marsh, & Yacoe, 1983). This accumulation of stores can lead to an increase in the mass of nutritional organs (e.g., Barceló, Love, & Vézina, 2017; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Piersma, Gudmundsson, & Lilliendahl, 1999; Swanson, 1991a), allowing for better assimilation of nutrients (Bairlein, 1985) and greater supply of metabolizable energy. Lastly, both stages exhibit considerable protein accumulation and increase in lean mass (e.g., Chaplin, 1974; Dawson & Marsh, 1986; Lindström & Piersma, 1993; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Piersma, 1990) which can increase the overall energy consumption of resting birds, thereby increasing physiological maintenance costs (i.e., basal

metabolic rate – BMR; McKechnie, Noakes, & Smit, 2015; Swanson & Dean, 1999; Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017).

Given the similar phenotypic adjustments involved in cold acclimatization and preparation for migration, some studies have examined the potential benefits of one life history stage carrying over to the other. For example, because prolonged shivering and long-distance flight share muscle function (Marsh & Dawson, 1989; Wiersma, Chappell, & Williams, 2007), investigations have found that muscle preparation for spring migration also improves  $M_{\text{sum}}$  (Corder & Schaeffer, 2015; Swanson, 1995; Swanson & Dean, 1999; Vézina et al., 2007). However, most studies have focused on neotropical or mild-temperate passerines (e.g., Swanson, 1995; Swanson & Dean, 1999), and although an elevated thermogenic capacity in the spring may occur as a by-product of flight endurance adaptations (Zhang et al., 2015), any benefits gained from phenotypic changes for migration may not fully advantage species that do not face constraining cold conditions. In contrast, in temperate species that encounter cold temperatures in the spring when migrating towards higher latitudes and even when arriving early on their breeding grounds, the increase in  $M_{\text{sum}}$  as a by-product of flight endurance adjustments may be a clear performance benefit in the cold at subsequent life history stages (Vézina et al., 2007). In addition, experimental cold-training (short daily exposures to cold) can also lead to better exercise endurance in birds (Zhang et al., 2015). While this suggests that winter cold acclimatization could be advantageous for migration in species that depart early enough in the spring to still be expressing high cold hardiness, this hypothesis has never been tested.

We used the Arctic breeding snow bunting (*Plectrophenax nivalis*), a 30-50 g songbird known for its winter cold endurance (Le Pogam et al., 2020; Scholander, Walters, et al., 1950) and early spring departure (McKinnon et al., 2019; Snell et al., 2018) to determine whether a winter cold-associated phenotype can be maintained to provide thermoregulatory benefits for migration towards and arrival on cold, high latitude breeding grounds. Snow buntings require significant phenotypic adjustments to winter in the open, snowy and cold conditions (Le Pogam et al., 2020) of North America, Europe and Asia. In

spring, these birds migrate through winter landscapes well before snow melt (Macdonald et al., 2012; McKinnon et al., 2016). Males arrive on the breeding grounds (up to latitudes of 83.6°N) in late April to secure territories and up to one month before females (Cramp & Perrins, 1994; Montgomerie & Lyon, 2020; Snell et al., 2018). During this period, conditions can be comparable or worse than those during winter with extensive snow cover and air temperatures ( $T_a$ ) reaching  $-30^{\circ}\text{C}$  (Meltofte, 1983). Since buntings are already cold-acclimatized when they enter the spring migratory period (Le Pogam et al., 2020), they are an ideal species for investigating whether phenotypic adjustments for winter are maintained to provide thermoregulatory benefits for migration and arrival in the cold. Using an outdoor captive population, we tracked phenotypic changes in traits underlying cold acclimatization and migration, namely body composition (total body mass ( $M_b$ ), fat and lean mass and pectoral muscle thickness), oxygen carrying capacity (hematocrit), maximum thermogenic capacity ( $M_{\text{sum}}$ ), thermogenic endurance (time to  $M_{\text{sum}}$ ), cold tolerance ( $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$ ) and maintenance energy expenditure (BMR), from the period of migratory preparation, to when birds would arrive on the breeding grounds and then until the end of summer.

We formulated two hypotheses to predict potential outcomes given the species' life history. First, buntings could exhibit a phenotypic pattern typical of most migratory birds by increasing body composition parameters (i.e., total  $M_b$ , fat mass and lean mass) and oxygen carrying capacity, relative to the winter period to support flight and arrival costs (e.g. Western sandpiper (*Calidris mauri*) Guglielmo & Williams, 2003; Gambel's white-crowned sparrows (*Zonotrichia leucophrys gambelii*) Krause et al., 2016). These changes could generate concomitant increases in BMR and  $M_{\text{sum}}$  relative to the winter period (Vézina et al., 2007). We termed this the *migratory upregulation hypothesis*. Under this hypothesis, phenotypic adjustments made for migration would provide additional capacity for coping with cold during migration and arrival on the Arctic breeding grounds. Studies have already provided support for this hypothesis (Corder & Schaeffer, 2015; Swanson, 1995; Swanson & Dean, 1999), although only one examined an Arctic breeding species (red knot (*Calidris canutus*) Vézina et al., 2007). Alternatively, buntings could benefit from cold acclimatization adjustments made before migration, a second hypothesis that we termed the *thermal*

*carryover hypothesis*. Under this previously unstudied scenario, the winter phenotype would be maintained into the spring as it would be sufficient to provide both cold and flight endurance for migration. Thus, except for fat stores and total  $M_b$  (Vincent & Bédard, 1976), we would predict no increase in body composition parameters, oxygen carrying capacity and  $M_{sum}$ , contrary to what is typically observed in other migratory birds. Basal metabolic rate, which depends largely on metabolically active lean tissues (Piersma et al., 1996, 2004; Swanson et al., 2017), would also remain stable relative to the winter period.

## 2.4 MATERIALS AND METHODS

### 2.4.1 Captive housing conditions

This study covers the period between March and August of each year, from 2014 to 2018, during which we studied captive male snow buntings at the avian facilities at the Université du Québec à Rimouski, Canada (48°27'00''N; 68°30'45''W). This work also includes data collected in December (shortest days), January and February (coldest days) for direct comparisons to an established winter phenotype (see Le Pogam et al., 2020 for a full analysis of winter phenotypic variation in snow buntings). Birds were maintained in an outdoor aviary previously described by Le Pogam et al. (2020) after being captured in open fields around Rimouski between January and March of each year using walk-in traps baited with cracked corn. Birds were banded at capture with a unique combination of four colour bands for individual identification. Additionally, we collected morphometric measurements (length of head plus beak, tarsus, tail, right wing) at capture to calculate a “structural body size index” (details below). Once in the aviary, birds were fed ad libitum with a commercial seed-mix (crushed corn, wheat, sorghum, white millet, red millet, black oil sunflower; Armstrong, Hagersville, ON, Canada) and Mazuri Small Bird Maintenance Mini Diet (#562A; Mazuri, Richmond, IN, USA). We also provided ice-free water ad libitum supplemented with electrolytes (0.17g/L; Electrolytes Plus, Vetoquinol N.-A. Inc. Lavaltrie, QC, Canada) and vitamins (0.44g/L; Poly-tonine A Complex, Vetoquinol N.-A. Inc. Lavaltrie, QC, Canada). The size of our study group varied between 16 and 44 birds (migration and summer only, average group size over the 5 years =  $25.9 \pm 0.9$  males) and

totalled 120 individual birds due to the addition of new individuals each winter to replace mortalities and individuals removed for other experiments.

#### **2.4.2 Air temperature measurements**

Air temperature was measured in the aviary using a temperature-sensitive data logger (iButton DS1922L, Maxim Integrated, San Jose, CA, USA) suspended 1.5 m above the ground in the shade. Air temperature was recorded every 10 minutes and we calculated daily average, minimum and maximum  $T_a$ . Missing data (11.6% of total dataset for this period) were obtained from regressions between iButton  $T_a$  data and  $T_a$  data extracted from the nearest weather station (48°30'50''N; 68°28'06''W, Government of Canada <http://climat.meteo.gc.ca>; average daily  $T_a$   $r^2 = 0.98$ ; min  $T_a$   $r^2 = 0.97$ ; max  $T_a$   $r^2 = 0.97$ ).

#### **2.4.3 Experimental design and sampling sequence**

Although our birds could not migrate, this study covers the transition between wintering and migratory phenotypes (March-May; Macdonald et al., 2012; McKinnon et al., 2019; Vincent & Bédard, 1976) and extends to the end of summer (early August). Birds did not breed in captivity but did undergo their postnuptial moult (starting in July). Each captive bird was repeatedly measured over the study period (range: 1-49 times, average: 11 times, depending on individuals and up to 69 times including winter data, see Table A.2 in Supporting Information). Metabolic performance ( $M_{sum}$  and BMR), hematocrit and pectoral muscle thickness were only measured in 2015 (Table A.2). Experimental trials measuring metabolic performance, hematocrit and body composition on the same day were limited to four birds per day, resulting in an average of 11.5 days to measure all birds. Experimental trials that did not include metabolic performance were carried out on all birds in one day. Each trial for a given month was conducted on similar dates each year (see Table A.2).

#### **2.4.4 Hematocrit and body composition measurements**

We captured birds in the aviary between 08:00 and 11:30 using a hand-held net. At capture, a blood sample (< 1% of total  $M_b$ ) was immediately collected from the brachial vein. Blood samples were temporarily stored in a refrigerator and later centrifuged for 10 minutes

at 8,000 RPM (UNICO PowerSpin BX Centrifuge C886, Dayton, NJ, USA) to obtain hematocrit data and plasma samples for parallel studies. We then weighed ( $\pm 0.01$  g) all birds and we non-invasively estimated the fat and lean component of their  $M_b$  using a quantitative magnetic resonance (QMR) apparatus ( $\pm 0.01$ g; EchoMRI, Houston, TX, USA; Guglielmo, McGuire, Gerson & Seewagen, 2011). We took three to four QMR measurements for each bird ( $< 12$  minutes total), and the average value was subsequently used for analyses. We then measured pectoral muscle thickness by ultrasonography (Dietz et al., 2007; Swanson & Merkord, 2013) following Le Pogam et al. (2020) using a LOGIQe ultrasound scanner fitted with a linear probe (12MHz, GE Healthcare, Wauwatosa, WI, USA). Three to four measurements of pectoral muscle thickness and keel height were obtained for each bird and average values were used in analyses (repeatability of ultrasound measurements:  $r = 67\%$  for pectoral and  $r = 69\%$  for keel; but see Royer-Boutin et al., 2015). Birds were then moved to an indoor cage (117 cm W  $\times$  39 cm H  $\times$  310 cm D) with food and water provided ad libitum until release into the aviary or metabolic performance measurements.

#### **2.4.5 Metabolic performance measurements**

Metabolic rates were measured using the instruments and protocol described in detail by Le Pogam et al. (2020), which are briefly presented here. Summit metabolic rate was measured on two birds simultaneously, allowing for two trials per day. Birds were taken from their cages at least one hour after ultrasound measurements for the first  $M_{\text{sum}}$  trial. At this point, their feathers were completely dry (our technique does not involve contact with ultrasonography gel, see Le Pogam et al. (2020); Royer-Boutin et al. (2015)). First trials started between 11:00 and 16:30 (average: 13:19  $\pm$  0.95h; duration: 1.92  $\pm$  0.8h) and second trials between 13:00 and 18:00 (average: 15:42  $\pm$  1.18h; duration: 1.70  $\pm$  0.7h). Each trial began by measuring a bird's  $M_b$  and body temperature ( $T_b$ : type-T thermocouple  $\sim 10$  mm into the cloaca, mean  $T_b$  before  $M_{\text{sum}} = 40.8 \pm 0.8^\circ\text{C}$ ). Birds were then placed inside metabolic chambers (1.5L) equipped with a perch and a type-T thermocouple to monitor chamber  $T_a$ , which were kept in a temperature-controlled cabinet. Birds were first exposed to dry,  $\text{CO}_2$ -free air for 10 minutes at  $-18^\circ\text{C}$  ( $-15^\circ\text{C}$  in August). Chamber inflow was then switched to a



helox gas mixture (1200 mL.min<sup>-1</sup>, 21% oxygen, 79% helium, Rosenmann & Morrison, 1974). A 5-minute baseline in helox at -18°C or -15°C was recorded before measuring the birds's oxygen consumption. Chamber temperature was lowered by 3°C every 20 minutes until birds became hypothermic (i.e., a visible steady decline of  $\dot{V}O_2$  for several minutes) or reached the end of the program. Birds with a  $T_b < 37^\circ\text{C}$  at the end of a trial were considered hypothermic (Swanson & Liknes, 2006). Thirteen measurements out of 225 (5.8%) involved birds that were not hypothermic ( $T_b \geq 37^\circ\text{C}$ ) at the end. However, since a hypothermic state is not a prerequisite to confirm  $M_{\text{sum}}$  (Dutenhoffer & Swanson, 1996), we opted to include these individuals in final analyses (removing them had no influence on results). As chamber temperature changed automatically every 20 minutes during  $M_{\text{sum}}$  trials, birds experienced the same measurement sequence. This allowed for the calculation of individual thermogenic endurance (sensu Swanson & Liknes, 2006), defined here as the time needed to reach  $M_{\text{sum}}$  (hereafter, time to  $M_{\text{sum}}$ ). We also extracted the chamber  $T_a$  at which each bird attained their  $M_{\text{sum}}$  (hereafter,  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$ ). Birds were then placed back in their cage and given food and water until BMR measurements.

Basal metabolic rates were measured overnight on four birds simultaneously. Birds were given at least 1h of rest between  $M_{\text{sum}}$  and BMR measurements. Hence, BMR measurements began between 17:00 and 22:00 (average: 19:04  $\pm$  1.10h) and ended between 07:10 and 9:20 (average: 7:55  $\pm$  0.52h) the next morning. Birds were placed in metabolic chambers kept at 25°C, a temperature within the thermoneutral zone for this species (Scholander, Hock, Walters, & Irving, 1950), and received dry CO<sub>2</sub>-free air at 650 mL.min<sup>-1</sup>. Air was then sampled, alternating between a baseline channel for 10 min and chamber channels for 40 min. After BMR measurements, birds were released back to the aviary.

Temperatures in chambers and  $\dot{V}O_2$  were recorded every 5 sec for  $M_{\text{sum}}$  and every 20 sec for BMR. Summit metabolism and BMR were calculated from the highest and lowest averaged 10 min of  $\dot{V}O_2$ , respectively, using equation 10.1 from Lighton (2019). Summit metabolism calculation included an instantaneous transformation (Bartholomew, Vleck, & Vleck, 1981). Shivering uses fat as fuel (Vaillancourt et al., 2005) and duration of BMR trials

(around 12:33± 1h19) insured that birds were post-absorptive at the time of BMR measurement (which occurred after 4h36 ± 2h19 of measurement). We therefore estimated energy expenditure for all measurements using an equivalent of 19.8 kJ.L<sup>-1</sup>O<sub>2</sub> and converted units to Watts (Gessaman & Nagy, 1988).

#### **2.4.6 Molt intensity and timing**

Since feather moult may influence lean body mass (Silverin et al., 1999; Walsberg & King, 1978) we examined the timing and intensity of moult with regard to changes in lean mass. Moult intensity was scored from June to August in 2018 (see Table A.2) in two areas of the body: tail and wings (primary feathers). Each feather was attributed a score between 0 and 5 for a maximum score of 60 for the tail and 50 for each wing (160 in total). The following scores were used: 0 – no moult (old feather); 1 – pin only; 2 – small feather, 3 – half length, 4 – 3/4 length and 5 – growth complete (new feather). To obtain an estimate of the individual rate of moult, we calculated the difference between two individual scores measured at least 2 weeks apart and divided it by the number of days separating them (average 15.25 days, range 12–28 days). These scores therefore represent the daily change in moult score in normal scaling units per day (hereafter “moult intensity”).

#### **2.4.7 Statistical analysis**

We used linear mixed-effects models to analyze temporal patterns of variation for each parameter. We included “Bird ID” as a random variable in all models to control for repeated measurements on the same birds. Models included “month” as a categorical variable, corresponding to the sequence of measurement including one or more measures per month (e.g., March-1, March-2, etc.; Table A.2). However, for parameters measured only in 2015, winter data included values only for that year. The variable “year” was ultimately treated as a random variable because we were not focused on “year effects” per se (but rather wished to control for this degree of variation), and since we did not have measurements for all months in each of the 5 years. To represent inter-annual variation for each parameter visually, we conducted the same linear mixed-effects models for each year separately and generated the least square means per year presented in the figures. Although our captures

were all conducted in the morning, we considered the potential effect of daily fattening (e.g., Laplante et al., 2019) on our variables by also including “relative time of capture” in the models (calculated as the time between sunrise and capture / daylength). We also initially included daylength in our models to take into account the effect of photoperiod. However, as this variable was not found to be significant, it was not included in subsequent models. We further included a measure of “structural body size” as a covariate in our models to control for the influence of size on  $M_b$ , lean and fat mass, and on muscle thickness. Since they control for all independent variables and covariates, least square means resulting from models with a significant body size effect are considered “size-independent”. This “structural body size” estimate was the first principal component obtained from a principal component analysis combining variation in the lengths of head plus beak, tarsus, wing and tail (Rising & Somers, 1989). For analyses investigating variation in muscle thickness, we also included “keel height” as a covariate to control for variation in thickness due to ultrasound probe positioning (see Le Pogam et al., 2020). Variation in metabolic performance was first analysed considering whole-animal  $M_{sum}$ , time to  $M_{sum}$ ,  $T_a$  at  $M_{sum}$  and BMR. Then, because changes in the amount and activity of lean tissue are considered the main driver of whole-animal metabolic rate in birds (Piersma et al., 1996, 2004; Swanson et al., 2017), we included lean mass as a covariate in those models to examine “mass-independent” variation. Under scenarios when whole and mass-independent results were similar, mass-independent values are presented. Note that individuals starting at  $-15^{\circ}\text{C}$  during  $M_{sum}$  measurements were removed from analyses on time to  $M_{sum}$ .

In addition to the above analyses, we also investigated how total  $M_b$  varied in relation to fat mass across the sampled period (excluding winter). We thus extracted least square means generated by our mixed-effects models (controlling for structural body size and time of capture with year and bird ID as random parameters), and used them in a linear regression where each point then represented an average value for a specific time point (see Le Pogam et al., 2020; Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011). Therefore, this “new” data set included 21 values for each parameter. We used the same approach to investigate how  $M_{sum}$  (whole and controlled for lean mass) varied in relation to pectoral muscle thickness and hematocrit (in

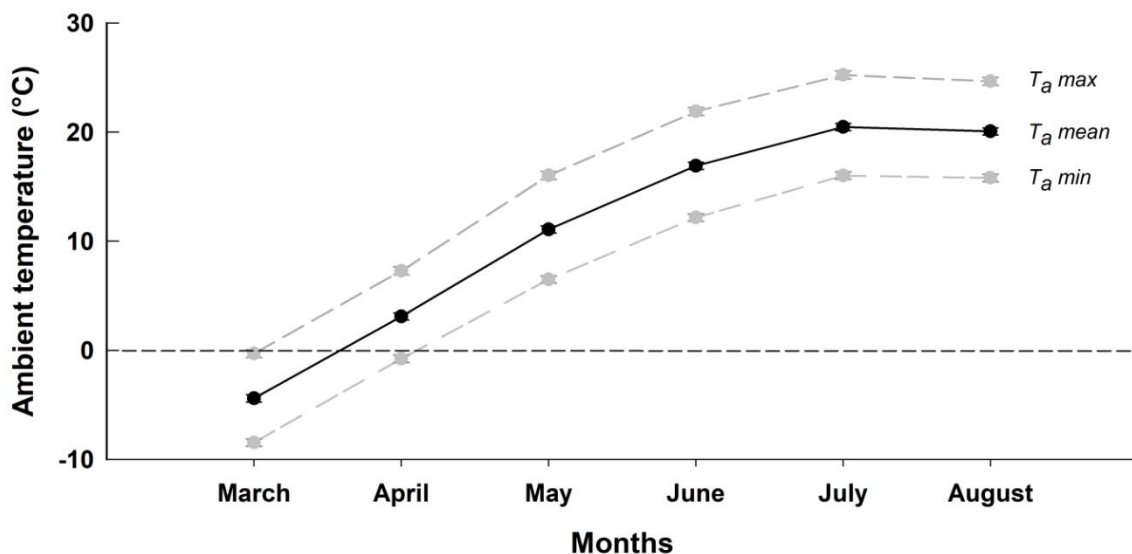
2015) and how lean mass (controlled for structural body size) varied in relation to moult intensity from July to October 2018 (adding September and October to the dataset for this specific analysis, see results). These “new” data sets included respectively 10, 11 and 7 values.

Visual inspection of residuals confirmed assumptions of normality and homogeneity for all models. Analyses were conducted using JMP pro (14.0.0) and data are presented as mean  $\pm$  standard error of the mean (s.e.m.) in the text and 95% confidence intervals (C.I.) in graphs. Post-hoc contrasts were used to determine differences between selected months.

## 2.5 RESULTS

### 2.5.1 Air temperature

Air temperatures were regularly below 0°C in March (mean  $T_a = -4.4 \pm 0.3^\circ\text{C}$ , mean max  $T_a = -0.3 \pm 0.4^\circ\text{C}$ , mean min  $T_a = -8.5 \pm 0.3^\circ\text{C}$ ; Figure 2.1) and gradually increased from April until peaking in July-August (mean  $T_a = 20.3 \pm 0.2^\circ\text{C}$ , mean max  $T_a = 25.0 \pm 0.3^\circ\text{C}$ , mean min  $T_a = 15.9 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ; Figure 2.1).



**Figure 2.1** Variation in mean, minimum and maximum air temperatures experienced by outdoor captive snow buntings in Rimouski, Québec, Canada from 2014 to 2018.

### 2.5.2 Body composition and oxygen carrying capacity

Controlling for the effect of structural size ( $F_{1,103} = 9.0$ ,  $P < 0.05$ ),  $M_b$  varied with time (month:  $F_{26,1493} = 114.5$ ,  $P < 0.0001$ , time of capture:  $P = 0.4$ ; Figure 2.2A). Body mass increased in March and April and peaked in early May (contrast: Mar-1 vs May-1:  $F_{1,1499} = 350.9$ ,  $P < 0.0001$ ) at a level 31.3% higher than that measured in March-1. Past this peak,  $M_b$  remained relatively stable from May into June (contrast: May-2 vs Jun-3:  $P = 0.1$ ) and gradually decreased from mid-June into July (by 23.4% contrast: Jun-2 vs Jul-2:  $F_{1,1505} = 231.3$ ,  $P < 0.0001$ ). Body mass reached its nadir between mid-July and August (contrast: July-2 vs Jul-3 - Aug-2:  $P = 0.7$ ). March values remained within a comparable range to those recorded at the peak of winter (contrast: Mar-1 – Mar-3 vs Dec – Feb:  $P = 0.08$ ).

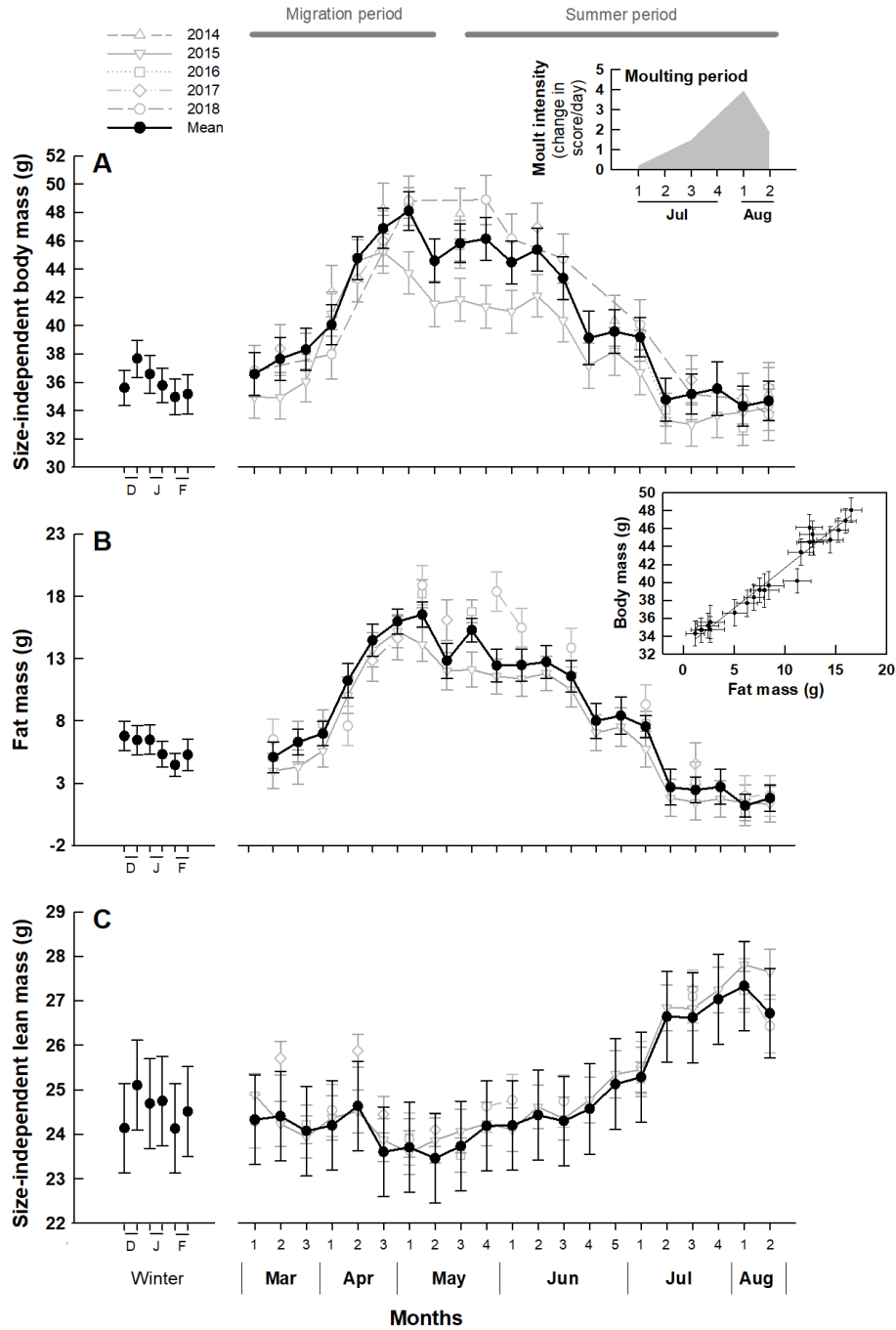
Temporal variation in fat mass was similar to that observed for  $M_b$  (month:  $F_{26,692} = 104.4$ ,  $P < 0.0001$ ; time of capture:  $F_{1,745} = 4.7$ ,  $P < 0.05$ ; Figure 2.2B), although we found no significant influence of structural body size ( $P = 0.3$ ). From mid-March, birds increased their fat stores by 225.6% to reach  $16.5 \pm 0.5$ g of body fat in early May (contrast: Mar-1 vs May-1:  $F_{1,886} = 288.3$ ,  $P < 0.0001$ ). Fat mass subsequently remained relatively stable until mid-June (contrast: May-2 vs Jun-3:  $P = 0.14$ ) and then decreased by 89.7% from mid-June to August (contrast: Jun-3 vs Aug-1:  $F_{1,856} = 248$ ,  $P < 0.0001$ ) where it reached its lowest ( $1.2 \pm 0.5$ g). From early April, fat mass surpassed winter values (contrast: Apr-1 vs Dec – Feb:  $F_{1,826} = 64.9$ ,  $P < 0.0001$ ) and levels recorded in August were below those observed during the winter (contrast: Aug-1 vs Dec – Feb:  $F_{1,492} = 143.6$ ,  $P < 0.0001$ ). Regression analysis of monthly least square means revealed that most of the variation in  $M_b$  was driven by variation in body fat ( $n = 21$ ,  $r^2 = 0.96$ ,  $P < 0.0001$ ; see insert Figure 2.2B).

Controlling for the effect of body size ( $F_{1,89} = 26.2$ ,  $P < 0.0001$ ), lean mass showed a different pattern to that of  $M_b$  and fat mass (month:  $F_{26,1223} = 76.0$ ,  $P < 0.0001$ , time of capture:  $P = 0.5$ ; Figure 2.2C). Lean mass remained relatively stable, and comparable to winter values, at  $24.1 \pm 0.1$ g between mid-March and mid-June (contrast: Mar-1 vs Jun-4:  $P = 0.3$ ), with the lowest values recorded in May. Starting in June-4, lean mass then gradually

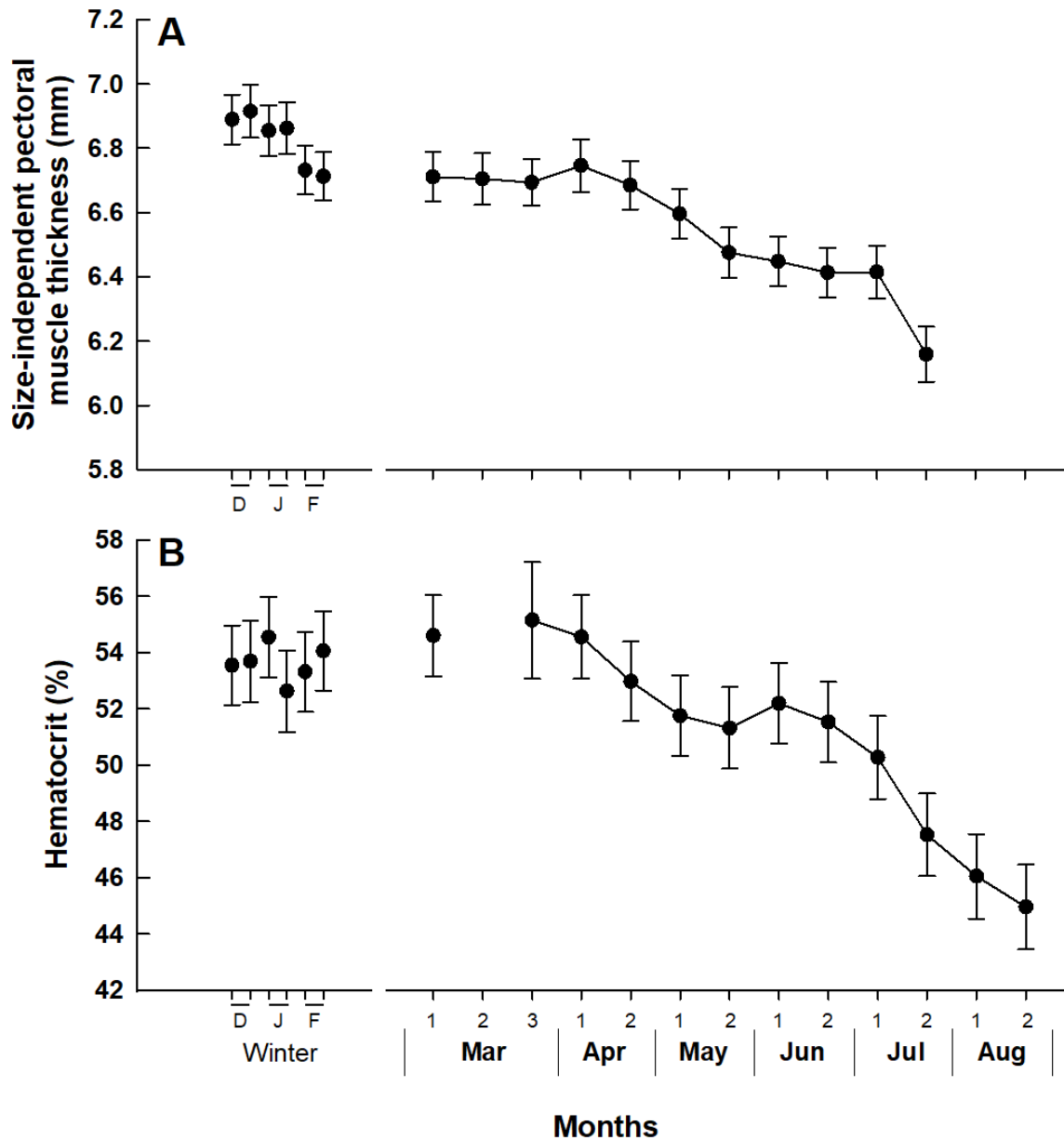
increased (by 10.1%) to reach  $27.3 \pm 0.4\text{g}$  in August (contrast: Jun-4 vs Aug-1:  $F_{1,1216} = 148.4$ ,  $P < 0.0001$ ).

Pectoral muscle thickness was related to structural body size ( $F_{1,26} = 9.8$ ,  $P < 0.005$ ) and varied significantly over time (month:  $F_{16,346} = 24.2$ ,  $P < 0.0001$ , keel height:  $F_{1,366} = 856.9$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 2.3A). Between March-1 and April-2, size corrected values were stable (contrast: Mar-1 vs Apr-2:  $P = 0.6$ ) at  $6.7 \pm 0.01\text{mm}$ , and slightly lower than at the peak of winter (contrast: Mar-1 – Apr-2 vs Dec – Jan:  $F_{1,350} = 35.4$ ,  $P < 0.0001$ ), but still comparable to February (contrast: Mar-1 – Apr-2 vs Feb:  $P = 0.9$ ). Then, muscle thickness gradually decreased by 7.8% between April-2 and July-2 (contrast: Apr-2 vs Jul-2:  $F_{1,348} = 94.1$ ,  $P < 0.0001$ ) to reach its thinnest at  $6.2 \pm 0.04\text{mm}$  in July-2.

Finally, hematocrit also varied significantly over time (month:  $F_{17,343} = 28.7$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 2.3B). From March to early April it was high (contrast: Mar-1 vs Apr-1:  $P = 0.9$ ;  $54.8 \pm 0.2\%$ ) and remained comparable to winter values until early May (contrast: Mar-1 – May-1 vs Dec – Feb:  $P = 0.5$ ). Hematocrit gradually decreased between early April and August (contrast: Apr-1 vs Aug-2:  $F_{1,343} = 158.3$ ,  $P < 0.0001$ ) to reach its lowest value ( $44.9 \pm 0.8\%$ ) by the end of August.



**Figure 2.2** Intra-seasonal variation in body composition over five years in outdoor captive snow buntings. Data are least square means by period within months for body mass (A), fat mass (B) and lean mass (C). Least square means were obtained from mixed-effects models controlling for month with year and bird ID as random parameters. Least square means also control for structural body size in A and C (not significant for fat mass) and for time of capture in B (not significant for body mass and lean mass). Least square means per year (gray) were obtained from mixed-effects models controlling for the same parameters except year. Values on the left represent winter means extracted from those same models. Insert in Figure 2.2B shows the relationship between body mass and fat mass using monthly least square means generated by our mixed-effects models ( $n = 21$ ,  $r^2 = 0.96$ ,  $P < 0.0001$ ). Data are least square means with error bars representing 95% confidence intervals.



**Figure 2.3** Intra-seasonal variation in pectoral muscle thickness and hematocrit in 2015 in outdoor captive snow buntings. Data are least square means by period within months for pectoral muscle thickness (A) and hematocrit (B). Least square means were obtained from mixed-effects models controlling for period with bird ID as a random parameter. Least square means in A also control for structural body size and keel length. Winter means extracted from those same models are also presented. Data are least square means with error bars representing 95% confidence intervals.



### 2.5.3 Metabolic performance

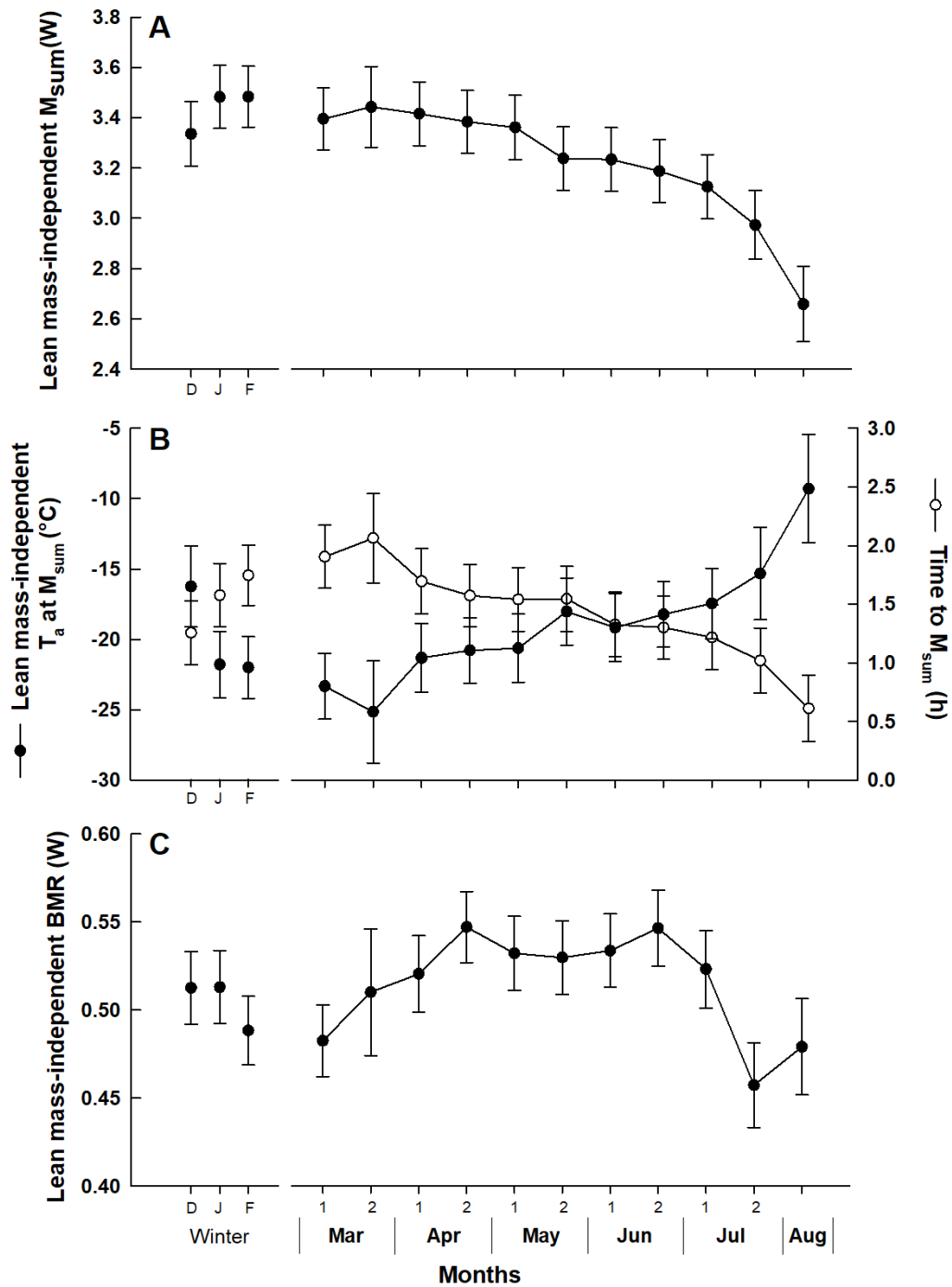
Summit metabolic rate ( $M_{\text{sum}}$ ), whether considered whole or corrected for lean mass ( $F_{1,272} = 272.1$ ,  $P < 0.0001$ ), varied over time (month for whole-animal  $M_{\text{sum}}$ :  $F_{13,251} = 19.7$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure A.1A; month for lean mass-independent  $M_{\text{sum}}$ :  $F_{13,251} = 19.1$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 2.4A). When considering the effect of lean mass,  $M_{\text{sum}}$  remained relatively stable between March and early May (contrast: Mar-1 vs May-1:  $P = 0.5$ ) and comparable to the coldest months of winter (contrast: Mar-1 – May-1 vs Dec – Feb:  $P = 0.3$ ), at  $3.40 \pm 0.03$  W. Then, after remaining relatively high and near winter levels, it gradually declined before falling sharply in July and August (contrast: July-2 vs Aug:  $F_{1,251} = 33.6$ ,  $P < 0.0001$ ). Regression analysis of monthly least square means revealed that variation in whole-animal  $M_{\text{sum}}$  was strongly positively associated with variation in size-independent pectoral muscle thickness ( $n = 10$ ,  $r^2 = 0.92$ ,  $P < 0.0001$ ). This association remained strong for lean mass-independent  $M_{\text{sum}}$  ( $n = 10$ ,  $r^2 = 0.96$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 2.5A). The latter was also strongly positively associated with variation in hematocrit ( $n = 11$ ,  $r^2 = 0.94$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 2.5B).

Cold endurance, measured as the time needed to reach maximal heat production, showed a seasonal-related pattern similar to  $M_{\text{sum}}$ . Indeed, time to  $M_{\text{sum}}$  varied over the months ( $F_{13,252} = 13.3$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 2.4B; lean mass:  $P = 0.06$ ). After surpassing winter values in March (contrast: Mar-1 – Mar-2 vs Dec – Feb:  $F_{1,253} = 19$ ,  $P < 0.0001$ ), values remained relatively stable (contrast: Apr-1 vs May-2:  $P = 0.3$ ) and comparable to those recorded at the peak of winter (contrast: Apr-1 – May-2 vs Dec – Feb:  $P = 0.4$ ) before decreasing from the end of May to August (contrast: May-2 vs Aug:  $F_{1,252} = 46.8$ ,  $P < 0.0001$ ). At that point, birds were reaching their  $M_{\text{sum}}$  3.2 times faster than in March (0.6h vs 1.9h).

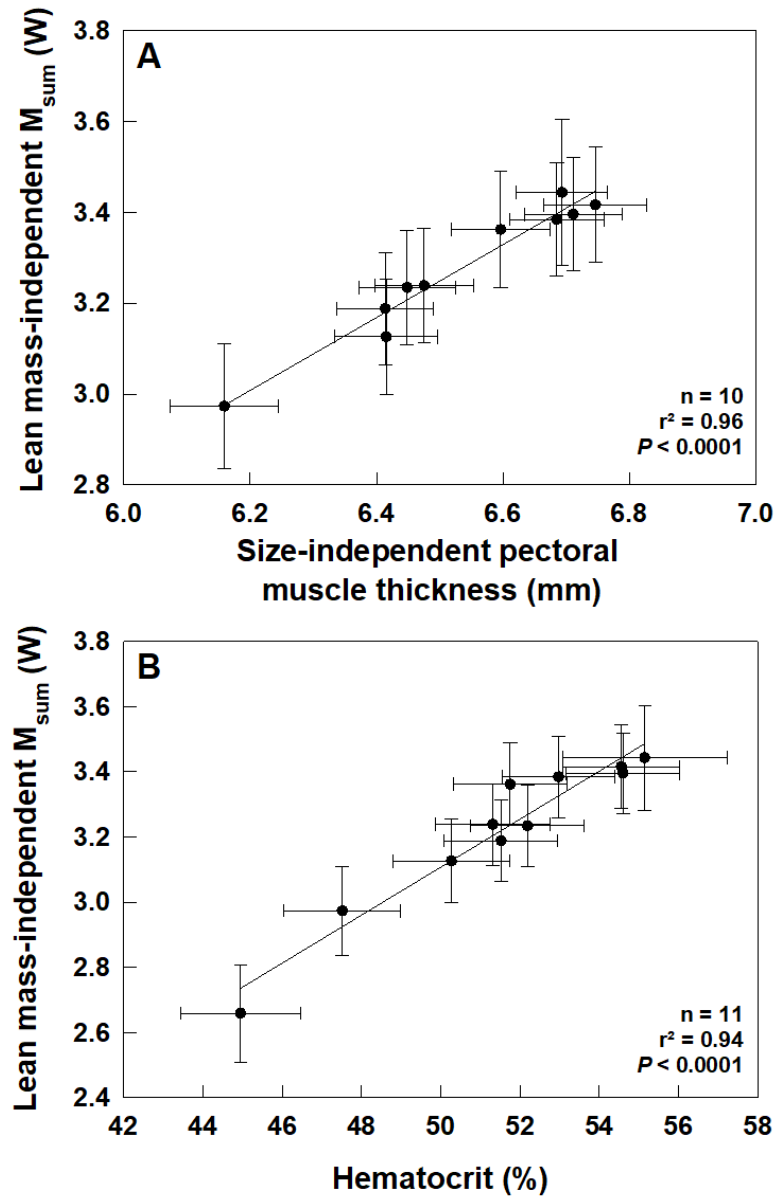
The temperature at which buntings attained their  $M_{\text{sum}}$ , whether considered raw or corrected for lean mass ( $F_{1,244} = 4.8$ ,  $P < 0.05$ ), also varied over time (month for whole-animal  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$ :  $F_{13,229} = 7.6$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure A.1B; month for lean mass-independent  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$ :  $F_{13,231} = 8.0$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 2.4B) and showed an opposite pattern to cold endurance (i.e., time to  $M_{\text{sum}}$ ). In March, birds reached their  $M_{\text{sum}}$  at a  $T_a$  of  $-25.2 \pm 1.8^\circ\text{C}$  in

helox. Then,  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$  increased gradually and, by August, birds were attaining their  $M_{\text{sum}}$  at  $-9.3 \pm 1.9^\circ\text{C}$  (contrast: Mar-2 vs Aug:  $F_{1,240} = 40.6$ ,  $P < 0.0001$ ). Interestingly, the  $T_a$  at  $M_{\text{sum}}$  remained comparable to values recorded in winter throughout summer, with experimental temperatures in June and July still being similar to those obtained in December (contrast: Jun-1 – Jul-2 vs Dec:  $P = 0.4$ ).

Basal metabolic rate (BMR), whether considered whole or corrected for lean mass ( $F_{1,140} = 5.9$ ,  $P < 0.05$ ) varied through the summer (month for whole BMR:  $F_{13,258} = 4.9$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure A.1C; month for lean mass-independent BMR:  $F_{13,262} = 5.1$ ,  $P < 0.0001$ ; Figure 2.4C). Controlling for the effect of lean mass, BMR increased by 13.4% between March-1 and April-2 (contrast:  $F_{1,259} = 21.8$ ,  $P < 0.0001$ ), remained relatively stable until June-2 (contrast Apr-2 vs Jun-2:  $P = 0.9$ ) at  $0.54 \pm 0.004$  W, a level surpassing that observed in winter (contrast: Apr-2 – Jun-2 vs Dec – Feb:  $F_{1,258} = 22$ ,  $P < 0.0001$ ) and then declined rapidly (by 16.3%) to reach its lowest level in July-2 ( $0.45 \pm 0.01$  W) (contrast Jun-2 vs July-2:  $F_{1,276} = 30.7$ ,  $P < 0.0001$ ).



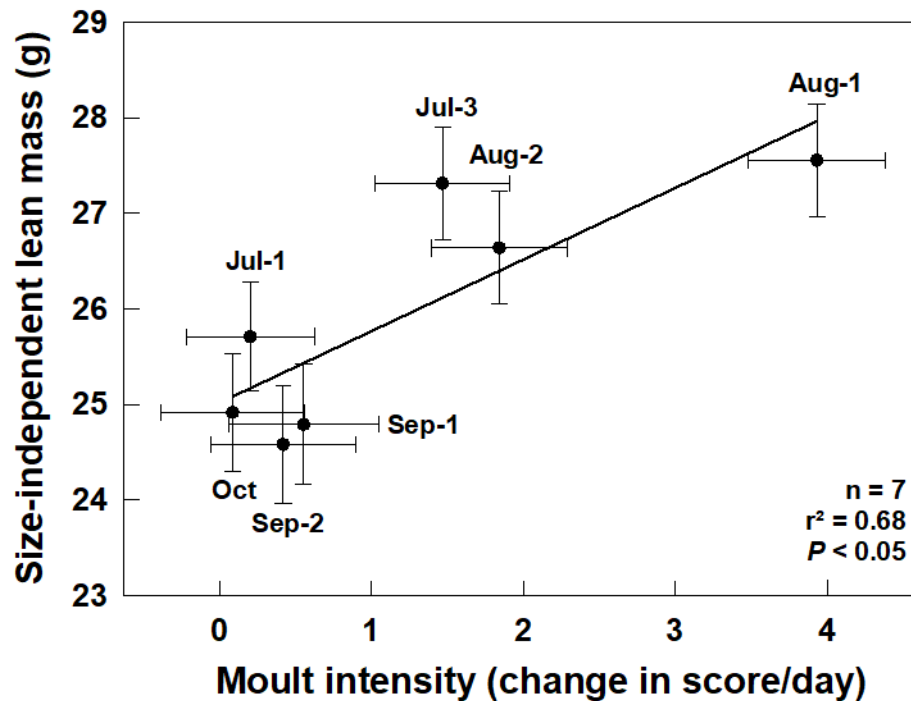
**Figure 2.4** Intra-seasonal variation in metabolic performance in 2015 in outdoor captive snow buntings. Data are least square means by period within months for  $M_{sum}$  (A), time to  $M_{sum}$  and  $T_a$  at  $M_{sum}$  (B) as well as for BMR (C). Least square means were obtained from mixed-effects models controlling for period and lean body mass (not significant for time to  $M_{sum}$ ) with bird ID as a random parameter. Winter means are extracted from those same models. Data are least square means with error bars representing 95% confidence intervals.



**Figure 2.5** Relationships between  $M_{sum}$  and pectoral muscle thickness (A) and hematocrit (B) in outdoor captive snow buntings. Values are least square means generated by our mixed-effects models and are based on measurement periods between March and August in 2015. Error bars show 95% confidence intervals.

### 2.5.4 Molt intensity

Regression analysis, using monthly means extracted from mixed models, revealed a relatively strong positive relationship between lean body mass and moult intensity in buntings ( $n = 7$ ,  $r^2 = 0.68$ ,  $P < 0.05$ ; Figure 2.6).



**Figure 2.6** Relationship between lean mass and moult intensity measured from June to October 2018. Values are least square means generated by mixed-effects models controlling for month and bird ID as random parameters. Least square means for lean mass also control for structural body size. Error bars represent 95% confidence intervals.

## 2.6 DISCUSSION

This study was designed to determine whether and by which mechanism winter cold acclimatization can carry over to benefit subsequent migration and arrival/summer stages using cold specialized snow buntings as a model species. Specifically, we tested whether birds acclimated to cold winter conditions in early spring (1) experience additional phenotypic changes in preparation for migration, with consequent positive effects on thermogenic capacity (*migratory upregulation hypothesis*), or whether these birds are (2) already predisposed, in terms of thermogenic capacity and cold endurance, to migrate

through cold northern environments, thus requiring no further changes in thermoregulatory traits (*thermal carryover hypothesis*). Typically, migratory species conform to the former hypothesis as they prepare for migration by increasing the size of several body components (e.g., fat stores, pectoral muscles, cardiopulmonary organs) and by elevating hematocrit and metabolic performance, which then confer additional benefits in terms of thermogenic capacity (Swanson, 1995; Zhang et al., 2015). However, changes in snow buntings did not fully match this pattern. Whereas body mass, fat mass, and BMR increased relative to the winter phenotype as predicted by our *migratory upregulation hypothesis*, traits underlying cold endurance (i.e., lean mass, pectoral muscle thickness, hematocrit,  $M_{\text{sum}}$  and time to  $M_{\text{sum}}$ ) remained stable, and high, into the months encompassing migration (March-May, Macdonald et al., 2012; McKinnon et al., 2016; Snell et al., 2018) and even into most of the summer, which is consistent with our *thermal carryover hypothesis*. In fact, both thermogenic capacity and cold endurance only showed the first clear signs of decline in July. Hence, for snow buntings our data suggest that phenotypic adjustments for winter cold acclimatization likely provide sufficient cold endurance for both their spring migration and arrival on the breeding grounds, and even possibly for breeding under unpredictable Arctic summer conditions.

### **2.6.1 Changes in body composition only partially follow the typical pattern of migratory birds**

#### **2.6.1.1 Increase in fat and total body mass for migration**

As we predicted based on previous observations (Vincent & Bédard, 1976) and expectations under the *migratory upregulation hypothesis*, snow buntings increased their fat mass by more than 200% in March and April and remained at elevated levels until the end of June. This pattern clearly drove variation in  $M_b$  (insert in Figure 2.2B), with a corresponding 31% increase. As with shivering, migratory flights are largely fuelled by lipids (Jenni & Jenni-Eiermann, 1998) and while buntings accumulate fat in winter (around 6g, Le Pogam et al., 2020), winter fat levels are much lower than those observed during migration (17g in May here). This seasonal difference in fat mass could therefore stem from the fact that, winter

fat load reflects a balance between predation and starvation risks (Brodin, 2001, 2007) while in migration, birds are likely driven by the urgency to arrive early on their breeding grounds (Guindre-Parker, Baldo, et al., 2013). In fact, April fat stores represented an amount equivalent to 64% of buntings lean (wet) body mass. This is comparable to values of 50-70% reported in long distance migrants crossing geographical barriers (Blem, 1980; Lindström & Piersma, 1993; Newton, 2008, reviewed by Guglielmo, 2018). Accordingly, buntings from our study population must cross the Labrador Sea to reach their Greenland breeding grounds (Macdonald et al., 2012).

While the increase in fat stores is consistent with the *migratory upregulation hypothesis*, buntings also maintained large fat stores late into the summer in direct contradiction with previous studies of captive migrants reporting declines in fat shortly after birds achieve a migratory phenotype (e.g., King, Farner, & Morton, 1965; Piersma, Cadée, & Daan, 1995; Vézina et al., 2017). The reason(s) for the maintenance of fuel stores are not immediately clear, but a number of hypotheses can be formulated. Previous studies showed that fat storage can be governed by endogenous circannual processes independently from the immediate environment (Bairlein & Gwinner, 1994; Maggini & Bairlein, 2010; McWilliams, Adkins-Regan, & Vleck, 2016; Piersma, 2002; Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011). This timing mechanism could allow for maintaining stores beyond migration to cope with potentially harsh and unpredictable winter-type conditions on Arctic breeding grounds (e.g., Møller, 1983; Morrison, Davidson, & Wilson, 2007; Walsh, Shapiro, & Shy, 2005). However, temperatures on the winter range of buntings can be quite similar to those encountered during breeding (e.g.,  $-5.1 \pm 7.6^{\circ}\text{C}$  in May and June at Alert, NU, at the northern extreme of the species breeding range in Canada, compared to  $-9^{\circ}\text{C}$  in our aviaries in January and February, Le Pogam et al., 2020) and wintering buntings do not maintain fat stores that large (Le Pogam et al., 2020). Maintaining fat stores later in summer could also serve as fuel for other energy-intensive activities such as establishing and defending territories in the spring, as well as breeding (Guindre-Parker, Baldo, et al., 2013; Macdonald et al., 2016). Maintenance of fat stores would allow males to spend less time foraging and more time on activities that promote reproductive success, such as display flights and aggressive pursuits,

during a very short breeding season (Macdonald et al., 2012; Sandberg & Moore, 1996; Snell et al., 2018). More field data are required, however, to address these hypotheses.

### **2.6.1.2 Maintenance of lean mass and pectoral muscle thickness at a winter level**

As predicted by the *thermal carryover hypothesis*, buntings maintained constant, winter-level, lean mass and pectoral muscle thickness throughout their transition from wintering to migration phenotypes and into the summer. Snow buntings increase pectoral muscle thickness by 8% in winter (Le Pogam et al., 2020). This is associated with an improvement of shivering heat production (Liknes & Swanson, 2011; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Swanson, 1991b), which is maintained for most of the summer (this study). Given that flight and shivering use the same muscle metabolic pathways (Marsh & Dawson, 1982; Wiersma, Chappell, & Williams, 2007), it is likely that the winter muscle phenotype provides the capacity required for this species to migrate through cold northern environments, as well as for breeding in unpredictable thermal conditions (Petit & Vézina, 2014a; Walsh, Shapiro, & Shy, 2005; Zhang et al., 2015).

As buntings were moulting their wing and tail feathers in July, we also observed a clear increase in lean body mass. The reasons underlying this change appear independent from requirements for thermoregulation (mean  $T_a = 20.3 \pm 0.2^\circ\text{C}$  in July and August) or migration (fall migration: Sept.-Nov., Macdonald et al., 2012; McKinnon et al., 2016). Regression analysis, using monthly means extracted from mixed models, confirmed a relatively strong positive relationship between lean body mass and moult intensity (Figure 2.6), and suggests that postnuptial feather growth leads to an accumulation of new lean tissue. Synthesis and deposition of keratin increase considerably during moult (King & Murphy, 1990) and this is associated with the creation of new capillary networks to support keratin deposition (Kuenzel, 2003). The skin can also be fully regenerated during feather growth (up to 80.0 cm<sup>2</sup> of surface regenerated in white-crowned sparrow, (Walsberg & King, 1978) and, interestingly, preliminary dissection data (A. Le Pogam et al. unpublished data) also show an increase in lean dry skin mass during moult in buntings. The spleen and thymus have also



been shown to increase in mass during moult, possibly to cope with potential infections and parasites to which birds are more susceptible at that time (Anderson, 1970; Silverin et al., 1999). Some or a combination of these changes could contribute to the increase in lean mass observed here.

## **2.6.2 Winter cold endurance carries over into migration and beyond**

### **2.6.2.1 Maintenance of thermogenic capacity and cold endurance at a winter level**

Consistent with the *thermal carryover hypothesis*, we found that buntings maintained a high winter thermogenic capacity and cold endurance not only into the period of migratory fattening, but also for a large part of summer, even at relatively warm temperatures. Our results therefore differ from those of previous studies that reported 10 to 25% increases in thermogenic capacity in association with the development of migratory phenotypes (Swanson, 1995; Vézina et al., 2007). It has been suggested that these performance increases are beneficial by-products from phenotypic adjustments for flight endurance rather than direct adjustments for thermogenesis (i.e., the *migratory upregulation hypothesis*, Swanson & Dean, 1999; Vézina et al., 2007; Zhang et al., 2015). Although this is likely, it appears that the opposite trend is at play in buntings. Seasonal increases in  $M_{\text{sum}}$  between summer and winter months are common in resident, non-migratory species (McKechnie, Noakes, & Smit, 2015) and we recently showed that these same captive buntings increase their  $M_{\text{sum}}$  by 27% during winter acclimatization (Le Pogam et al., 2020). Whether these birds could have increased  $M_{\text{sum}}$  further above their cold acclimatized phenotype is not clear and would require further study. However, the maintenance of winter thermogenic capacity through the migratory period does suggest that this level of metabolic output is sufficient to support migration in cold environments. It may also provide reserve capacity in cold endurance at later stages as birds can be surprised by harsh weather or snow storms during breeding (Meltotte, 1983). Overall, our results for thermogenic capacity and endurance as well as their associated traits lend strong support for the *thermal carryover hypothesis*. The winter

phenotype confers a high level of cold endurance that is maintained during migration and even during the breeding period in snow buntings.

### **2.6.2.2 Thermogenic capacity, pectoral muscle thickness and oxygen carrying capacity**

Adjustments for flight endurance in preparation for migration are often characterized by increases in flight muscle mass (Dietz et al., 1999; Jehl, 1997; Marsh, 1984; Piersma, Gudmundsson, & Lilliendahl, 1999), oxygen carrying capacity (Chilgren & DeGraw, 1977; Krause, Németh, et al., 2016; Piersma, Everaarts, & Jukema, 1996) and size of cardiopulmonary organs (Liknes & Swanson, 2011; Piersma, Gudmundsson, & Lilliendahl, 1999; Zheng et al., 2008). In this study, pectoral muscles thickness and hematocrit were maintained at winter levels throughout the migratory period and for a good part of summer. Given their likely role in promoting thermogenic capacity in this species (Dubois, Hallot, & Vézina, 2016; Le Pogam et al., 2020) these parameters surely contributed to maintain the high, winter-level,  $M_{\text{sum}}$  observed during that time, as shown by the positive relationships in Figure 2.5. Interestingly, both whole and lean mass corrected  $M_{\text{sum}}$  were correlated with pectoral muscle thickness. As statistically controlling for lean mass should largely remove the effect of skeletal muscle mass on  $M_{\text{sum}}$  (e.g., skeletal muscles contribute to 73% of lean  $M_b$  in black-capped chickadee, *Poecile atricapillus*, M. Petit and F. Vézina unpubl. data), this observation is consistent with an influence of muscle metabolic processes at the cell level in regulating thermogenic capacity (Milbergue, Blier, & Vézina, 2018; Noakes, Karasov, & McKechnie, 2020; Stager, Swanson, & Cheviron, 2015; Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011). These results, therefore, further support the *thermal carryover hypothesis* as adjustments previously made for cold acclimatization are maintained throughout migration.

### **2.6.2.3 Migration related changes in basal metabolic rate**

Basal metabolic rate increased by 13% and followed a pattern similar to that of body and fat mass throughout the migration and summer periods. In contrast with thermogenic capacity and cold endurance, this pattern is thus consistent with the *migratory upregulation*

*hypothesis* and is similar to that observed in other migratory species (Piersma, Cadée, & Daan, 1995; Swanson & Dean, 1999). However, lean mass, a known contributor to physiological maintenance costs (Piersma et al., 1996, 2004; Swanson et al., 2017) remained relatively constant during that time and variation in BMR was still observed when statistically considering its effect. This therefore suggests that BMR variation at this stage originates from tissue level activity supporting the migratory phenotype rather than from a change in mass of metabolically active tissues (Guglielmo et al., 2002; McKechnie, 2008; Piersma et al., 2004; Vézina et al., 2017; Vézina & Williams, 2005a). Note that high levels of summer BMR have also been reported in other Arctic-breeding species (Jetz, Freckleton, & McKechnie, 2008; Kvist & Lindström, 2001).

### 2.6.3 Conclusion

This study investigated phenotypic adjustments during the transition from winter to migration and summer in a cold specialized songbird and evaluated how specific phenotypic traits associated with cold endurance and flight performance conformed to two newly formulated hypotheses, the *migratory upregulation* and *thermal carryover hypotheses*. We have shown that specific traits such as body mass and BMR change to support migration, while other traits such as thermogenic capacity and cold endurance remain constant at winter levels throughout the migratory transition and beyond. Therefore, this study not only demonstrates that basal and maximal traits of metabolic performance can vary independently as previously observed (Barceló, Love, & Vézina, 2017; Dubois, Hallot, & Vézina, 2016; Petit, Lewden, & Vézina, 2013), but also that winter cold acclimatization in this cold specialist likely provides sufficient aerobic performance for migration in relatively harsh cold environments (Zhang et al., 2015). Maintaining high thermogenic capacity through migration and beyond likely contributes to the ability of males to migrate very early in thermally inhospitable conditions to secure the best breeding territories well ahead of the commencement of breeding (Macdonald et al., 2012; Snell et al., 2018). While our findings may appear exceptional, it should be noted here that several other passerines species also winter in cold temperate areas and breed in Arctic regions (e.g., common redpoll (*Acanthis flammea*), lapland longspur (*Calcarius lapponicus*), white-crowed sparrow, horned lark

(*Eremophila alpestris*). We therefore expect the findings reported here to be typical of these long-distance migrant cold specialists rather than specific to snow buntings, although this idea will require more research. Our collective results are the first direct demonstration that specific phenotypic traits underlying cold endurance can positively carry over into a migratory phenotype independently from traits, such as fat storage, requiring considerable body transformation and maintenance costs. Presumably, this thermogenic capacity in buntings provides a competitive advantage to colonize Arctic breeding habitats up to the northern edge of terrestrial land

### **Acknowledgments**

We thank Claire Bottini, Polan-Devi Darboven, Justine Drolet, Alexandre Paiement, Kim Régimbald Bélanger, Charles Richard and Laurence Rondeau for their help in catching birds in the wild and Gratien Bélanger and Sylvie Foucault for granting access to their land for snow bunting captures. We would also like to thank Yann Bouchez, Emily Cornelius Ruhs, Justine Drolet, Sandrine Gingras, Sarah Piedalue, Jolanie Roy, Gabrielle Roy and Cécile Vansteenberghé for their punctual help in measuring body composition, Fanny Hallot, Karine Dubois and Myriam Milbergue for their help in measuring metabolic performance as well as Claire Bottini for participating in ultrasound measurements. We are also grateful to Jonathan Coudé for technical support, Alain Caron for statistical advices, Josianne Ruest for her help with bird maintenance and three anonymous reviewers for constructive comments on an earlier version of this paper. This research benefited from a generous donation from the Kenneth M. Molson Foundation. It was also supported by NSERC Discovery grants to F.V. and O.P.L., Canada Foundation for Innovation (CFI) awards to F.V. and O.P.L., and Canada Research Chair funding to O.P.L. All bird handling was approved by the animal care committee of the Université du Québec à Rimouski (CPA-54-13-130 and CPA-71-17-195) and was conducted under scientific (SC-48) and banding (10889E) permits from Environment and Climate Change Canada.

# CHAPITRE 3

---

**LES PLECTROPHANES DES NEIGES MAINTIENNENT UNE  
ENDURANCE AU FROID À UN NIVEAU HIVERNAL PENDANT LEUR  
MIGRATION VERS LE HAUT-ARCTIQUE**



**Snow buntings maintain winter-level cold endurance while migrating to the High Arctic**

Audrey Le Pogam<sup>1,2</sup>, Ryan S. O'Connor<sup>1,2</sup>, Oliver P. Love<sup>3</sup>, Justine Drolet<sup>1,2</sup>, Lyyette Régimbald<sup>1</sup>, Gabrielle Roy<sup>1</sup>, Marie-Pier Laplante<sup>1,2</sup>, Dominique Berteaux<sup>1,2</sup>, Andrew Tam<sup>4</sup>,  
François Vézina<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, Canada*

<sup>2</sup> *Groupe de recherche sur les environnements nordiques BORÉAS, Centre d'Études Nordiques, Centre de la Science de la Biodiversité du Québec, Rimouski, QC, Canada*

<sup>3</sup> *Department of Integrative Biology, University of Windsor, Windsor, ON, Canada*

<sup>4</sup> *Department of National Defence, 8 Wing Environment, Astra, ON, Canada*

**Publication :** Ce troisième article a été soumis pour publication à la revue *Frontiers in Ecology and Evolution* en mai 2021 après avoir été invité à contribuer à la collection *Ecophysiological adaptations associated with animal migration*

**Contributions :** Conception de l'étude et élaboration de la méthodologie : ALP, FV ; Récolte des données : ALP, M-PL, JD, LR, GR, FV; Analyse des données : ALP ; Financement : FV, OPL ; Rédaction : ALP, RSO, FV, OPL, Tous les auteurs ont contribué de manière critique au projet et ont donné leur approbation finale pour la publication.

**Communications :** Une version abrégée de cet article a été présentée lors des conférences suivantes :

2021 : Oral - *Society for Integrative and Comparative Biology*, Conférence virtuelle

2020 : Oral - *Arctic Change, congrès annuel du réseau ArcticNet*, Conférence virtuelle

### 3.1 RÉSUMÉ

Les passereaux qui se reproduisent dans l'Arctique migrent tôt au printemps et peuvent être confrontés à des environnements hivernaux nécessitant une endurance au froid tout au long de leur trajet. L'une de ces espèces, le plectropane des neiges (*Plectrophenax nivalis*), est connue pour son importante capacité thermogénique. Des études empiriques suggèrent que les plectropanes peuvent effectivement maintenir un niveau d'acclimatation au froid comparable à l'hiver pendant la migration et la reproduction lorsqu'ils sont gardés en captivité sur leurs lieux d'hivernage. Cette capacité pourrait être avantageuse non seulement pour migrer dans un environnement froid, mais aussi pour affronter les conditions météorologiques imprévisibles de l'Arctique à l'arrivée et pendant la période de pré-reproduction. Cependant, la migration entraîne aussi généralement une diminution de la taille de plusieurs composantes corporelles liées aux performances métaboliques. Ainsi, les plectropanes pourraient également subir une certaine perte d'endurance au froid lors de leur migration. Nous avons cherché à déterminer si les plectropanes des neiges vivant en liberté conservent un phénotype acclimaté au froid pendant la migration printanière. À l'aide d'un ensemble de données pluriannuelles, nous avons comparé la composition corporelle (masse corporelle, réserves lipidiques, épaisseur du muscle pectoral), la capacité de transport de l'oxygène (hématocrite) et la performance métabolique (capacité thermogénique -  $M_{sum}$  et taux métabolique de base - BMR) d'oiseaux capturés sur leurs lieux d'hivernage (janvier-février, Rimouski, QC, 48°N) et pendant la période de pré-reproduction (avril-mai) dans l'Arctique (Alert, NU, 82°). Nos résultats montrent que la masse corporelle, les réserves lipidiques et le  $M_{sum}$  étaient similaires entre les deux périodes, alors que l'hématocrite et l'épaisseur du muscle pectoral étaient plus faibles chez les oiseaux en pré-reproduction que chez les individus en hivernage. Ces résultats suggèrent que, bien que la dégradation des tissus pendant la migration puisse affecter la taille des muscles de vol, les plectropanes sont capables de maintenir leur endurance au froid (c'est-à-dire le  $M_{sum}$ ) jusqu'à leurs lieux de reproduction en Arctique. Cependant, le BMR était plus élevé pendant la période de pré-reproduction que pendant l'hiver, ce qui suggère des coûts d'entretien plus élevés dans l'Arctique.

**Mots clés :** *Oiseau Arctique, Composition corporelle, BMR, Acclimatation au froid, Migration, Flexibilité phénotypique,  $M_{sum}$*

### 3.2 ABSTRACT

Arctic breeding songbirds migrate early in the spring and can face winter environments requiring cold endurance throughout their journey. One such species, the snow bunting (*Plectrophenax nivalis*), is known for its significant thermogenic capacity. Empirical studies suggest that buntings can indeed maintain winter cold acclimatization into the migratory and breeding phenotypes when kept captive on their wintering grounds. This capacity could be advantageous not only for migrating in a cold environment, but also for facing unpredictable Arctic weather on arrival and during preparation for breeding. However, migration also typically leads to declines in the sizes of several body components linked to metabolic performance. As such, buntings could also experience some loss of cold endurance as they migrate. Here, we aimed to determine whether free-living snow buntings maintain a cold acclimatized phenotype during spring migration. Using a multi-year dataset, we compared body composition (body mass, fat stores, pectoralis muscle thickness), oxygen carrying capacity (hematocrit) and metabolic performance (thermogenic capacity -  $M_{\text{sum}}$  and maintenance energy expenditure - BMR) of birds captured on their wintering grounds (January-February, Rimouski, QC, 48°N) and during pre-breeding (April-May) in the Arctic (Alert, NU, 82°). Our results show that body mass, fat stores and  $M_{\text{sum}}$  were similar between the two stages, while hematocrit and pectoralis muscle thickness were lower in pre-breeding birds than in wintering individuals. These results suggest that although tissue degradation during migration may affect flight muscle size, buntings are able to maintain cold endurance (i.e.,  $M_{\text{sum}}$ ) up to their Arctic breeding grounds. However, BMR was higher during pre-breeding than during winter, suggesting higher maintenance costs in the Arctic.

**Key words :** *Arctic bird, Arctic breeding, Body composition, Basal Metabolic rate, Cold acclimatization, Migration, Phenotypic flexibility, Summit metabolic rate*



### 3.3 INTRODUCTION

Arctic breeding birds typically migrate early in the spring to maximise the chances of successful reproduction during a relatively short summer (Love et al., 2010; Rakhimberdiev et al., 2018; Ramenofsky & Wingfield, 2017; Reneerkens et al., 2016; van Gils et al., 2016). For these species, early arrival allows for securing the best breeding territories and partners, and for breeding as soon as conditions become suitable (Drent et al., 2003; Ramenofsky & Wingfield, 2006), which can improve reproductive success (Guindre-Parker, Grant Gilchrist, et al., 2013; Lepage, Gauthier, & Menu, 2000). However, such early arrival implies migrating through cold winter conditions and, upon arrival on Arctic breeding grounds, birds are often faced with substantial snow accumulation, sub-zero temperatures and unpredictable weather that can persist for several weeks (e.g., Møller, 1983; Walsh, Shapiro, & Shy, 2005 see also Morrison, Davidson, & Wilson, 2007; Wingfield, Kelley, & Angelier, 2011)

For species that overwinter in cold environments (e.g., temperate zones), these arrival conditions may be comparable or even more constraining than those encountered during winter (Møller, 1983; Snell et al., 2018; Wingfield, Kelley, & Angelier, 2011). However, the physiological mechanisms involved in acclimatization to cold and to long-distance migration share similar physiology (Dawson, Marsh, & Yacoe, 1983; Zhang et al., 2015). For example, heart mass, blood oxygen-carrying capacity (hematocrit), and flight muscle size increase during cold acclimatization (Cooper, 2002; Liknes & Swanson, 2011; O'Connor, 1995, 1996, Petit, Lewden, & Vézina, 2013, 2014; Swanson, 1990b; Swanson & Vézina, 2015; Zheng et al., 2008), and are thought to improve shivering heat production (Petit & Vézina, 2014a; Swanson, 1990a). Similar changes also occur in preparation for migration (Battley & Piersma, 1997; Krause, Németh, et al., 2016; Piersma, Gudmundsson, & Lilliendahl, 1999) to support active flight (Battley & Piersma, 1997; Piersma, Gudmundsson, & Lilliendahl, 1999). Therefore, birds migrating early in the spring could profit from a carryover of their winter phenotype to benefit migration in the cold.

Recently, Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., (2021) observed that snow buntings (*Plectrophenax nivalis*), Arctic breeding songbirds known for their cold endurance

(Le Pogam et al., 2020; Scholander, Hock, Walters, & Johnson, 1950), were able to maintain a winter phenotype through most of summer when kept in outdoor aviaries at their wintering latitude (48°N), at a time when air temperatures can exceed 25°C. More precisely, the birds were found to maintain thermogenic capacity and cold endurance comparable to those from the peak of winter not only throughout migratory fattening, but also during the period corresponding to migration and Arctic breeding. Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., (2021) concluded that the winter phenotype in snow buntings transitioning into spring migration provided enough thermogenic capacity to migrate in cold, winter-like environments and to support thermoregulatory needs upon arrival on their breeding grounds. However, that study was based on captive individuals that could not migrate, and migration also has considerable physiological effects, such as the loss of body mass as well as declines in oxygen carrying capacity and muscle mass, which together could both potentially lead to a reduction in thermogenic capacity (Cooper, 2002; Dubois, Hallot, & Vézina, 2016; Jenni et al., 2006; O'Connor, 1995). Thus, whether this cold specialist maintains winter-level cold endurance through spring migration remains to be tested.

The objective of this study was to compare peak of winter and pre-breeding phenotypes in free-living snow buntings to determine whether these birds show comparable metabolic performance and supporting traits at those stages, which would lend strength to the hypothesis that buntings maintain cold endurance throughout their spring migration (as proposed by Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021). To test this hypothesis we compared phenotypic traits related to thermogenic capacity (Table 3.1) in buntings captured around Rimouski, Québec, Canada (48°N) during the peak of winter (i.e., January and February) to those of individuals captured in the weeks following arrival (i.e., May and early June) on breeding grounds at Alert, Nunavut, Canada (82°N). Based on our previous observations (Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021), we expected buntings would maintain a winter-type phenotype (Table 3.1) throughout both migration and pre-breeding. Birds would thus be expected to have comparable metabolic performance during winter in Québec and early spring in the Arctic. In contrast, if migration leads to body transformations that negatively impact metabolic performance at subsequent stages, we would instead expect

to find lighter birds in the spring showing lower performance levels compared to individuals measured during winter.

**Table 3.1** List of phenotypic traits measured in this study and their responses to cold and winter in passerine birds.

<b>Metabolic performance</b>			
<b>Phenotypic traits</b>	<b>Interpreted as</b>	<b>Response to cold/winter</b>	<b>Pertinent references</b>
Summit metabolic rate ( $M_{sum}$ )	Maximum shivering thermogenic capacity, index of cold endurance	Typically higher	<i>McKechnie and Swanson, 2010; Swanson, 2010; Petit et al., 2013; McKechnie et al., 2015; Le Pogam et al., 2020</i>
Basal metabolic rate (BMR)	Maintenance energy expenditure, index of physiological maintenance costs	Often higher but not in snow buntings	<i>McKechnie and Swanson, 2010; Swanson, 2010; Petit et al., 2013; McKechnie et al., 2015 but see Le Pogam et al., 2020</i>
<b>Phenotypic traits underlying metabolic performance</b>			
<b>Phenotypic traits</b>	<b>Interpreted as</b>	<b>Response to cold/winter</b>	<b>Pertinent references</b>
Body mass	Total body composition	Typically higher	<i>Carey et al., 1978; Liknes and Swanson, 1996; Zheng et al., 2008; Petit et al., 2014; Le Pogam et al., 2020</i>
Fat store	Energy reserves	Typically higher	<i>Carey et al., 1978; Liknes and Swanson, 1996; Zheng et al., 2008; Petit et al., 2014; Le Pogam et al., 2020</i>
Hematocrit	Blood oxygen carrying capacity	Typically higher	<i>Swanson, 1990b; O'Connor, 1996; Le Pogam et al., 2020</i>
Pectoralis muscle thickness	Shivering capacity	Typically increases with high metabolic rate	<i>O'Connor, 1995; Cooper, 2002; Swanson and Merkord, 2012; Petit et al., 2013; Swanson and Vézina, 2015; Le Pogam et al., 2020</i>

### 3.4 MATERIALS AND METHODS

#### 3.4.1 Study species

Snow buntings are an Arctic-breeding, cold-associated migratory passerine. In the spring, these birds migrate through cold winter landscapes (Macdonald et al., 2012; McKinnon et al., 2016; Snell et al., 2018), with males arriving on the breeding grounds to

secure territories (up to 83.6°N) up to a month before females (March-April, Cramp & Perrins, 1994; McKinnon et al., 2016; Montgomerie & Lyon, 2020; Snell et al., 2018). Arrival conditions can be comparable or even harsher than those experienced at the peak of winter, with extensive snow cover and air temperatures ( $T_a$ ) reaching -30°C (Meltofte, 1983). After arrival, buntings can maintain winter-like behaviour for several weeks before dispersing to defend breeding territories (Meltofte, 1983; Tinbergen, 1939). Although the wintering range of birds breeding at Alert has yet to be formally established as no banded individuals have been recovered so far, banding data analyzed by Meltofte (see Fig 1. in Meltofte, 1983) and Macdonald et al. (2012) suggest that Alert birds could be wintering in either North America or in the Siberian steppes. Regardless, in both cases wintering conditions are similar to that experienced by birds in Eastern Québec. For example, Snell et al. (2018) tracked snow buntings breeding at Svalbard and reported a mean temperature on their wintering range (i.e., Siberian steppes) of -10.9°C to -3.6°C, which encompasses the mean temperature on the wintering ground for this study (-8.9°C in February, Table 3.2).

### **3.4.2 Ethics statement**

All bird handling at Rimouski (QC) and at Alert (NU) was approved by the animal care committee of the Université du Québec à Rimouski (Rimouski: CPA-54-13-130 and CPA-71-17-195, Alert: CPA-61-15-163 and CPA-71-17-194) and was conducted under banding (10889E) and scientific (SC-48, NUN-SCI-15-05,) permits from Environment and Climate Change Canada, and under scientific permits from the Department of Environment of Nunavut (WL 2016-006, 2017-021, 2018-010, 2019-002).

### **3.4.3 Ethics Study sites, capture and measurements protocol**

#### **3.4.3.1 On the breeding grounds**

Snow buntings were studied in the Arctic during the springs of 2016 to 2019 at Alert, Nunavut, Canada (82°29'58"N, 62°28'5"W). Specifically, we studied birds from their arrival to their dispersal onto breeding territories (hereafter pre-breeding,  $n = 213$  males and 53 females, see suppl. Table A.3 for detailed sample sizes per variable). Although single

individuals or small groups (i.e., 2-4 birds) can be observed earlier, the bulk of arrivals at Alert occur in the last week of May (A. Le Pogam, F. Vézina, pers. obs.).

Birds were caught with homemade walk-in traps or potter traps (Third Wheel, Devon, England) baited with commercial seed-mix (crushed corn, wheat, sorghum, white millet, red millet and black sunflower, Armstrong, Hagersville, ON, Canada).

Immediately after capture, a blood sample (< 1% of body mass) was taken from the brachial vein. Blood samples were temporarily kept in cold storage and later centrifuged for 10 minutes at 8,000 RPM to obtain data on hematocrit (i.e., packed red blood cell volume). The birds were then weighed ( $\pm 0.01$  g) and sexed according to Smith (1992). We banded birds with a USGS numbered metal band as well as a unique combination of three darvic color bands to allow for individual identification from a distance. Right wing length was measured as an index of structural body size. The size of fat stores was also estimated visually using a standard fat score (from 0 = no visible fat in furculum area to 6 = fat overlapping pectoralis muscles according to Canadian Snow Bunting Network guidelines, Love et al., 2012). The birds were then brought into our field laboratory (less than 6 km distance from capture site, transport time < 20 minutes) where we estimated pectoralis muscle thickness non-invasively by ultrasonography (Dietz et al., 1999; Le Pogam et al., 2020; Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021; Royer-Boutin et al., 2015) using a LOGIQe ultrasound scanner fitted with a linear probe (12MHz, GE Healthcare, Wauwatosa, WI, USA). Since the supracoracoideus muscle is very thin at the measured location, muscle thickness values essentially reflect thickness of the pectoralis muscle. Birds were then held in cages (76 cm W  $\times$  46 cm D  $\times$  45 cm H) with *ad libitum* water and seed (same mix as for captures) until metabolic performance measurements were complete (see below).

#### **3.4.3.2 On the wintering grounds**

Each winter between January and February from 2015 to 2018, wintering buntings were captured around Rimouski, Québec, Canada (48°27'N, 68°30'W) as part of a snow bunting banding program. Snow buntings have a differential migration (Macdonald et al.,

2016; McKinnon et al., 2019) and the wintering population around Rimouski is composed in very large proportion of males (total captures males = 508, females = 31, see suppl. Table A.3 for detailed sample sizes per variable). Birds were captured using walk-in traps baited with crushed corn. Upon capture, birds were subjected to the same measurement sequence as described above except that they were banded with only a USGS numbered metal band. Blood samples were taken on 51 individuals and later centrifuged for 10 minutes at 8,000 RPM (UNICO PowerSpin BX Centrifuge C886, Dayton, NJ, USA) to obtain hematocrit data. In total, 57 birds were transported to the avian facilities at the Université du Québec à Rimouski (less than 25 km distance from the capture site, transport time < 25 minutes) for pectoralis muscle thickness and metabolic performance measurements. Birds were held in indoor cages (117 cm W × 310 cm D × 39 cm H) with access to *ad libitum* food and water while waiting for measurements.

#### 3.4.4 Metabolic performance

For both Alert and Rimouski, we used the set-up and protocol described by Le Pogam et al. (2020, 2021), except that the oxygen analyzers used at Alert were two Sable Systems Foxboxes (Sable Systems, Las Vegas, NV, USA) instead of the Servomex oxygen analyser (gas purity analyzer, model 4100, Boston, MA, USA) used at Rimouski. The following key points are specific to this study.

Summit metabolic rate ( $M_{\text{sum}}$  - the maximum metabolic rate in response to the cold, considered a measure of cold endurance; Dutenhoffer & Swanson, 1996) was measured on up to two birds simultaneously, allowing for two trials per day. Depending on the time of capture, measurements began between 10:04 and 22:45 (average: 15:09 ± 3.27h; duration: 1.68 ± 0.89h) at Alert, and between 10:14 and 17:10 (average: 12:26 ± 2.05h; duration: 1.88 ± 0.67h) at Rimouski. Measurements took place at least one hour after ultrasound measurements. Birds were placed inside stainless steel metabolic chambers (effective volume 1.5L) and exposed to dry, CO<sub>2</sub>-free air for 10 minutes at -18°C (flow rate of 1200 mL.min<sup>-1</sup>), before switching to a helox gas mixture (21% oxygen, 79% helium, Rosenmann & Morrison, 1974). Chamber temperature was then lowered by 3°C every 20 minutes until birds

became hypothermic (decline of birds' oxygen consumption ( $\dot{V}O_2$ ) for several minutes) or reached the end of the trial programmed time (125 minutes). At Alert, 5 measurements out of 30 (16.6%) involved birds that were not hypothermic at the end of their trial (cloacal temperature  $\geq 37^\circ\text{C}$ , Swanson & Liknes, 2006). There were no such cases at Rimouski. However, since hypothermia is not a prerequisite to confirm  $M_{\text{sum}}$  (Dutenhoffer & Swanson, 1996), we included these 5 individuals in our analyses (removing them did not affect results). Basal metabolic rates (BMR – metabolic rate at rest considered a measure of physiological maintenance; McNab, 1997; Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017) were measured overnight on a maximum of four birds simultaneously. At Alert, BMR trials began between 18:56 and 0:22 (average start time:  $21:12 \pm 1.49\text{h}$ ) and at Rimouski between 17:03 and 21:19 (average start time:  $18:58 \pm 1.27\text{h}$ ). Since  $M_{\text{sum}}$  and BMR were assessed consecutively, we ensured a minimum 1h of rest after the  $M_{\text{sum}}$  measurements. Using the same metabolic chambers as for  $M_{\text{sum}}$ , birds were exposed to  $25^\circ\text{C}$ , a temperature within snow bunting's thermoneutral zone (Scholander, Hock, Walters, & Johnson, 1950) and received dry  $\text{CO}_2$ -free air ( $650 \text{ ml min}^{-1}$ ) for the duration of trials ( $10.88 \pm 1.81\text{h}$  on average at Alert,  $13.49 \pm 1.84\text{h}$  at Rimouski). Birds were weighed ( $\pm 0.01 \text{ g}$ ) before and after measurements, and average body mass ( $M_b$ ) was used in BMR analyses. We used a sampling frequency of 5 sec for  $M_{\text{sum}}$  and 20 sec for BMR. Both  $M_{\text{sum}}$  and BMR were calculated from the highest and lowest averaged 10 min trace of  $\dot{V}O_2$ , respectively, using equation 10.1 from Lighton (2019) and using the instantaneous measurement technique (Bartholomew et al., 1981) for  $M_{\text{sum}}$ . The duration of BMR trials ensured that birds were post-absorptive at the time of BMR measurements. We estimated energy expenditure for all metabolic measurements using a constant equivalent of  $19.8 \text{ kJ L}^{-1}\text{O}_2$  and converted units to Watts (Gessaman & Nagy, 1988).

### 3.4.5 Weather data

Weather data for both field sites were obtained from nearby weather stations. For Rimouski, we used data from Pointe-au-Père station ( $48^\circ 30' 50''\text{N}$ ;  $68^\circ 28' 06''\text{W}$ , Government of Canada <http://climat.meteo.gc.ca>). For Alert, we used data collected by Environment and Climate Change Canada at their Alert weather station (i.e., our study site).

### 3.4.6 Statistical analysis

Our objective was to determine whether snow buntings retain a winter phenotype up to their pre-breeding stage. Given the known differences between sexes in phenotypic adjustments for breeding and wintering (see below), we also considered potential differences in patterns between sexes for body mass and fat score (not enough data in females for the other variables in winter). We therefore used linear mixed-effect models with  $M_b$ , fat score, hematocrit, pectoralis muscle thickness,  $M_{sum}$  and BMR as separate response variables. All models included “period” (i.e., winter or pre-breeding) as categorical predictor variables. The variable “year” was treated as a random parameter because we did not have measurements for all years in the two periods.

For  $M_b$  and fat score, we had sufficient data to consider the potential (fixed) effect of sex and the interaction “sex x period” in models. This is pertinent as mass and fat load could differ between sexes (Laplante et al., 2019). We also considered a potential effect of daily fattening on  $M_b$  and fat (e.g., Laplante et al., 2019) by including a covariate “time at capture”. Analyses on  $M_b$  further considered the potential influence of structural body size by including wing length in models.

For pectoralis muscle thickness, “keel height” measured by ultrasound was included as a covariate to control for variation in muscle thickness due to probe positioning (Le Pogam et al., 2020; Le Pogam, O’Connor, Love, Petit, et al., 2021).

We first analysed metabolic performance parameters considering whole-animal  $M_{sum}$  and BMR. We then included  $M_b$  as a covariate in models to examine “mass-independent” variation. Under scenarios when whole and mass-independent results were similar, mass-independent values are presented. Since the birds could be caught at any time of the day,  $M_{sum}$  and BMR measurements could not always be conducted on the day of capture. Therefore, models also included “length of captivity”.

Visual inspection of residuals confirmed assumptions of normality and homogeneity of residuals for all models. All analyses were conducted using JMP pro (14.0.0) and data are



presented as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM) in the text and 95% confidence intervals (CI) in graphs. Effects were considered significant and retained in models when  $P < 0.05$ . However, for one model, the interaction was marginally non-significant at  $P = 0.06$ . We therefore opted to keep this interaction term in the final model.

### 3.5 RESULTS

#### 3.5.1 Weather conditions

Air temperatures were lower at Alert during pre-breeding, (April and May, Table 3.2) than at Rimouski during the coldest period of the winter (January and February, Table 3.2).

**Table 3.2** Air temperatures recorded at the peak of winter at Rimouski (QC) averaged from 2015 to 2018 and in the spring at Alert (NU) averaged from 2016 to 2019.

<b>Ambient air temperature (°C)</b>			
	<b>Min</b>	<b>Mean</b>	<b>Max</b>
<b>Winter (Rimouski, QC)</b>			
January	-12.5 $\pm$ 5.7	-8.6 $\pm$ 5.7	-4.0 $\pm$ 6.6
February	-13.2 $\pm$ 6.6	-8.9 $\pm$ 6.4	-4.3 $\pm$ 6.8
<b>Spring (Alert, NU)</b>			
April	-26.3 $\pm$ 4.7	-23.6 $\pm$ 4.6	-20.9 $\pm$ 5.0
May	-12.6 $\pm$ 4.8	-10.7 $\pm$ 4.6	-8.8 $\pm$ 4.7

#### 3.5.2 Phenotype comparisons between winter and pre-breeding

After considering the significant effects of body size and time at capture,  $M_b$  and fat score were comparable between winter and pre-breeding ( $M_b$ : winter = 38.8  $\pm$  0.5g, pre-breeding = 38.2  $\pm$  0.5g; fat score: winter = 3.3  $\pm$  0.15 units, pre-breeding = 3.4  $\pm$  0.15 units) despite a non-significant trend for birds being slightly heavier in winter (1.5%, Table 3.3). A significant sex effect was observed for  $M_b$  (Table 3.3), with males (39.6  $\pm$  0.4g) being heavier than females (37.4  $\pm$  0.6g) for their size. There was also a tendency for females to have higher fat reserves on the breeding ground while males remained unchanged (Table 3.3), but since there was a large overlap in data, this trend (not shown) was very weak. Hematocrit was lower during pre-breeding (52.5  $\pm$  0.5 %) than in winter (54.6  $\pm$  0.6 %, Table 3.3, Fig. 3.1A).

Pectoralis muscle thickness differed between periods (Table 3.3) with values being 3.12% higher during winter ( $5.44 \pm 0.06\text{mm}$ ) than pre-breeding ( $5.27 \pm 0.04\text{mm}$ , Fig. 3.1B).

Summit metabolic rate ( $M_{\text{sum}}$ ), whether considered whole (not shown) or corrected for  $M_{\text{b}}$ , remained stable between winter and pre-breeding (Table 3.3, Fig. 3.1C, winter =  $2.9 \pm 0.1\text{W}$ , pre-breeding =  $3.1 \pm 0.1\text{W}$ ). After considering the significant effect of captivity duration (BMR decreases with captivity duration, data not shown), BMR, whole (not shown) or corrected for  $M_{\text{b}}$ , was 22.9% higher during pre-breeding ( $0.59 \pm 0.01\text{W}$ ) than in winter ( $0.48 \pm 0.01\text{W}$ , Table 3.3, Fig. 3.1D).

**Table 3.3** Linear mixed-effects models comparing phenotypic traits in snow buntings measured during wintering at Rimouski and during pre-breeding at Alert. Models also considered the effect of sex on body mass and fat scores and included covariates meaningful to specific dependent variables. See text for details.

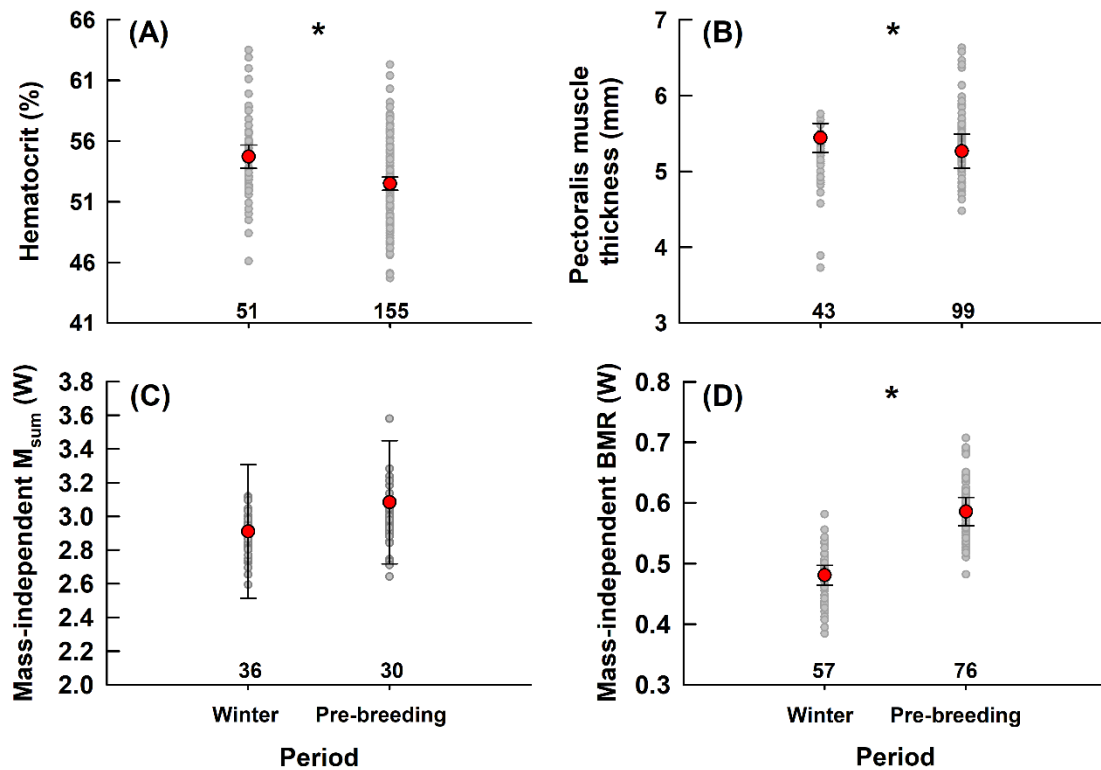
Variable	Body mass			Fat score		
	df	<i>F</i>	<i>P</i>	df	<i>F</i>	<i>P</i>
Period	1,626	3.53	0.06	1,735	1.08	0.30
Sex	<b>1,793</b>	<b>27.19</b>	<b>&lt; 0.0001</b>	1,802	0.0054	0.94
Sex x Period	-	-	-	1,802	3.45	0.06
Structural size	<b>1,792</b>	<b>60.57</b>	<b>&lt; 0.0001</b>	NA	NA	NA
Time at capture	<b>1,790</b>	<b>8.79</b>	<b>0.003</b>	<b>1,800</b>	<b>4.83</b>	<b>0.03</b>

Variable	Hematocrit			Pectoralis muscle thickness		
	df	<i>F</i>	<i>P</i>	df	<i>F</i>	<i>P</i>
Period	<b>1,27</b>	<b>12.00</b>	<b>0.002</b>	<b>1,9</b>	<b>5.24</b>	<b>0.05</b>
Keel	NA	NA	NA	<b>1,98</b>	<b>380.54</b>	<b>&lt; 0.0001</b>

Variable	$M_{\text{sum}}$			BMR		
	df	<i>F</i>	<i>P</i>	df	<i>F</i>	<i>P</i>
Period	1,20	1.32	0.26	<b>1,92</b>	<b>87.23</b>	<b>&lt; 0.0001</b>
Mass	<b>1,63</b>	<b>13.71</b>	<b>0.0005</b>	<b>1,108</b>	<b>55.50</b>	<b>&lt; 0.0001</b>
Length of captivity	NA	NA	NA	<b>1,129</b>	<b>6.90</b>	<b>0.01</b>



**Figure 3.1** Comparing hematocrit (A), pectoralis muscle thickness (B), mass-independent  $M_{sum}$  (C) and mass-independent BMR (D) in snow buntings measured in winter in Rimouski, Québec, Canada and during pre-breeding at Alert, Nunavut, Canada. A star indicates significant differences. Numbers indicate sample size for each group. Values in red are least means  $\pm$  CI controlling for the random effect of year and for covariates in models including body mass for  $M_{sum}$  and BMR, thus making these variables “mass-independent”. Grey dots show data predicted by models including fixed and random effects.

### 3.6 DISCUSSION

This study reports the northernmost measurements of thermogenic capacity ever measured in birds (i.e., Alert, Nunavut, Canada - only 817 km from North Pole). We aimed to determine whether pre-breeding snow buntings expressed a phenotype comparable to that observed while wintering at lower latitudes, which would support the hypothesis that these birds maintain winter-level metabolic performance and cold endurance throughout migration (Le Pogam, O’Connor, Love, Petit, et al., 2021). Overall, although all traits did not show the same pattern, our results suggest that snow buntings indeed maintain winter-like cold endurance during migration and during the pre-breeding period in the Arctic.

### **3.6.1 Thermogenic capacity, body mass and fat stores remain high up to the breeding ground**

We found that body mass, fat scores and summit metabolic rate were globally comparable between wintering and pre-breeding stages in snow buntings. These results are consistent with the hypothesis that buntings likely maintain winter-level cold endurance and energy stores throughout migration and certainly into early spring on the breeding grounds as suggested previously by Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., (2021). In fact, pre-breeding birds at Alert faced environmental conditions colder than those encountered during winter at Rimouski (Table 3.2). Therefore, the maintenance of these traits likely allows buntings to cope with cold and unpredictable conditions during migration and on arrival on the breeding grounds (Ramenofsky & Wingfield, 2006). Winter-level thermogenic capacity could be particularly beneficial for early arriving males that are known to secure the best breeding territories well before the onset of breeding (Macdonald et al., 2012; Meltofte, 1983; Snell et al., 2018).

We also observed that for a given structural size, males tended to be heavier in winter, but did not differ in fat stores between winter and pre-breeding. In contrast, females did not differ in  $M_b$ , but did tend to have larger fat reserves during pre-breeding. This observation is similar to that reported by Laplante et al., (2019) in wintering buntings, and suggests that males and females have a different relative body composition in terms of lean and fat mass, possibly due to differing wintering strategies (Macdonald et al., 2016). As male buntings typically arrive before females on the breeding grounds (Cramp & Perrins, 1994; McKinnon et al., 2016; Montgomerie & Lyon, 2020; Snell et al., 2018), they likely face colder temperatures (Table 3.2), which may require adjustments in body composition to sustain thermoregulatory demands that differ from females. For example, life in the cold leads to increased daily food consumption and consequently larger digestive organs (Barceló, Love, & Vézina, 2017), which could increase lean body mass with no effect on relative fat storage.

### **3.6.2 Lower oxygen carrying capacity and smaller pectoralis muscles on the breeding grounds**

Not all traits representative of a snow bunting winter phenotype (Table 3.1, Le Pogam et al., 2020) were fully similar when contrasting winter and pre-breeding birds. In fact, both pectoralis muscle thickness and oxygen carrying capacity (hematocrit) were lower in pre-breeding individuals than in birds measured during winter. The difference in muscle thickness could potentially be a direct consequence of tissue degradation during migration as observed in several species (Battley et al., 2000; Bauchinger & Biebach, 2001; Bauchinger & McWilliams, 2010b; Bauchinger, Wohlmann, & Biebach, 2005). However, pectoralis muscles in shorebirds have also been reported to decline in size and mass in the first week after arrival at Alert (Morrison, 2006; Vézina et al., 2012) which has been suggested to act as protein stores to facilitate migratory recovery and transition into the breeding phenotype (Morrison, 2006; Vézina et al., 2012). Although the bulk of snow buntings seem to arrive at Alert around the end of May (A. Le Pogam, F. Vézina, pers. obs.), which matches our measurements of pre-breeding birds, local sightings have also confirmed that some individuals arrive much earlier (end of April), albeit in very small numbers (A. Le Pogam, F. Vézina, pers. obs.). We therefore cannot completely rule out the possibility that some proportion of the pectoralis muscles might be lost post arrival. Interestingly, the smaller pectoralis size of pre-breeding birds was not reflected in lower shivering heat production measured as  $M_{\text{sum}}$ . However, this is not necessarily surprising since recent studies have suggested that  $M_{\text{sum}}$  can be upregulated without changes in muscle size (Barceló, Love, & Vézina, 2017; Milbergue, Blier, & Vézina, 2018; Stager, Swanson, & Cheviron, 2015), including in snow buntings (Le Pogam et al., 2020).

The reduced oxygen carrying capacity (lower hematocrit level) measured in pre-breeding buntings relative to wintering individuals is surprising. Birds faced with high energy demands, such as prolonged exercise for migration (Bairlein & Totzke, 1992; Morton, 1994; Piersma, Everaarts, & Jukema, 1996; Viscor, Marqués, & Palomeque, 1985) or high thermoregulatory requirements, typically show high oxygen transport capacity (Le Pogam et al., 2020; Morton, 1994; O'Connor, 1996; Swanson, 1990b), and birds measured at Alert

were living in a considerably colder environment than those measured in winter. The reason for this discrepancy is not immediately clear. However, other studies have also observed a decline in hematocrit during migration (e.g., Jenni et al., 2006; Landys-Ciannelli, Jukema, & Piersma, 2002; Piersma, Everaarts, & Jukema, 1996). One possible explanation suggested by Jenni et al., (2006) is that birds could increase their plasma volume by hemodilution to reduce blood viscosity, which could reduce the heart's energy expenditure during migration.

### **3.6.3 Physiological maintenance costs are higher on the breeding grounds**

We observed that physiological maintenance costs measured as BMR were higher during pre-breeding than during winter. This result contrasts with our predictions (i.e., same or lower BMR at Alert), but matches observations by Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., (2021) who reported a spring related increase in BMR in outdoor captive buntings kept on their wintering range. This elevated BMR was in fact maintained in captive birds throughout the periods corresponding to spring migration and most of breeding (Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021). Several studies on migratory shorebirds have also reported an elevated BMR during the arrival period or breeding season in the Arctic (Kvist & Lindström, 2001; Lindström & Klaassen, 2003; Vézina et al., 2012) and this increase in BMR has been interpreted as a result of high thermoregulatory demands on the breeding grounds (Jetz, Freckleton, & McKechnie, 2008; Kersten & Piersma, 1987; Kvist & Lindström, 2001). While the species in these studies typically winter in relatively warm environments (Kvist & Lindström, 2001; Lindström & Klaassen, 2003; Vézina et al., 2012), the snow buntings compared here were also exposed to colder temperatures in the spring at Alert than in eastern Québec in winter. As far as we know, this is the first report of high maintenance costs at Arctic latitudes in a pre-breeding passerine species. Furthermore, as BMR increased independently from body mass, our results suggest that the higher maintenance costs in the Arctic results from tissue level metabolic activity (i.e., metabolic intensity, Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017). Interestingly, as this result was also observed in snow buntings unable to migrate and exposed to much warmer temperatures, it could be that some of the underlying variation is driven by endogenous circannual cycles (Karagicheva et al., 2016; Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011).

**Acknowledgements**

We thank François Fournier from Environment and Climate Change Canada for his help with logistical support in the initial Alert phase of this project. We also thank Claire Bottini, Yann Bouchez, Emily Cornelius Ruhs, Polan-Devi Darboven, Alexandre Paiement, Kim Régimbald Bélanger, Charles Richard, Laurence Rondeau and Josianne Ruest for their help in catching birds in winter as well as Gratien Bélanger and Sylvie Foucault for granting access to their land for snow bunting captures. We are also grateful to Jonathan Coudé for technical support and Alain Caron for statistical advice. We thank Chris McRae and Nathan Koutroulides for their help with logistics and the personnel from CFS Alert for their support during fieldwork. This research benefited from a generous donation from the Kenneth M. Molson Foundation. It was also supported by NSERC Discovery grants to F.V. and O.P.L., Canada Foundation for Innovation (CFI) awards to F.V. and O.P.L., Canada Research Chair funding to O.P.L., as well as logistical support and funding from the Department of National Defence to F.V and D.B.

# CHAPITRE 4

---

**TRANSITIONS PHÉNOTYPIQUES AU SOMMET DU MONDE :  
LES PLECTROPHANES DES NEIGES CONSERVENT UN PHÉNOTYPE  
HIVERNAL PENDANT LA REPRODUCTION EN ARCTIQUE**





**Phenotypic transitions at the top of the world: Arctic snow buntings maintain a winter-like phenotype while breeding**

Audrey Le Pogam<sup>1,2</sup>, Ryan S. O'Connor<sup>1,2</sup>, Oliver P. Love<sup>3</sup>, Justine Drolet<sup>1,2</sup>, Kevin G. Young<sup>4</sup>, Lyette Régimbald<sup>1</sup>, Gabrielle Roy<sup>1</sup>, Francis Robitaille<sup>1</sup>, Dominique Berteaux<sup>1,2</sup>, Andrew Tam<sup>5</sup>, François Vézina<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Département de biologie, chimie et géographie, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, Canada*

<sup>2</sup> *Groupe de recherche sur les environnements nordiques BORÉAS, Centre d'Études Nordiques, Centre de la Science de la Biodiversité du Québec, Rimouski, QC, Canada*

<sup>3</sup> *Department of Integrative Biology, University of Windsor, Windsor, ON, Canada*

<sup>4</sup> *Department of Biology, Advanced Facility for Avian Research, University of Western Ontario, London (ON), Canada*

<sup>5</sup> *Department of National Defence, 8 Wing Environment, Astra, ON, Canada*

**Publication :** Ce quatrième article sera soumis pour publication à l'automne 2021.

**Contributions :** Conception de l'étude et élaboration de la méthodologie : ALP, FV ; Récolte des données : ALP, JD, LR, GR, KGY, FR, FV; Analyse des données : ALP ; Financement : FV, OPL ; Rédaction : ALP, RSO, FV, OPL, Tous les auteurs ont contribué de manière critique au projet et ont donné leur approbation finale pour la publication.

**Communications :** Une version abrégée de cet article a été présentée lors des conférences suivantes :

2021 : Oral - *Society for Integrative and Comparative Biology*, Conférence virtuelle

2020 : Oral - *Arctic Change, congrès annuel du réseau ArcticNet*, Conférence virtuelle

#### 4.1 RÉSUMÉ

Chez les oiseaux, plusieurs traits de composition corporelle diminuent en taille ou en masse pendant la reproduction. Cependant, une étude sur des plectrophanes des neiges (*Plectrophenax nivalis*) gardés en captivité à l'extérieur a démontré un effet de report de l'acclimatation au froid hivernal au printemps et en été, malgré des températures estivales beaucoup plus chaudes que sur les lieux de reproduction. Ceci suggère que le plectrophane pourrait être confronté à un double coût physiologique pendant la reproduction, à savoir devoir supporter un phénotype hivernal tout en régulant à la hausse d'autres traits pour la reproduction. L'étude actuelle vise à tester cette hypothèse. Entre 2016 et 2019, nous avons examiné comment la composition corporelle et la performance métabolique (capacité thermogénique et coûts de maintenance physiologique) des oiseaux capturés à la limite nord de leur aire de reproduction dans l'Arctique (Alert, NU, 82°) ont changé entre la période de pré-reproduction et le ravitaillement des oisillons. Nos résultats montrent que bien que la masse corporelle et les réserves de gras aient diminué de manière significative entre la période de pré-reproduction et la défense du territoire indépendamment des conditions thermiques, l'endurance au froid et les traits associés sont restés stables et élevés tant que la température ambiante est restée inférieure à une température seuil (0-2°C) qui coïncide avec la période d'approvisionnement des oisillons. Ces derniers résultats suggèrent donc que le plectrophane des neiges doit maintenir une capacité thermogénique élevée après son arrivée sur les lieux de reproduction tant que les températures restent inférieures au point de congélation, qu'il se reproduise activement ou non. Dans ce contexte, nos recherches suggèrent que ces oiseaux subissent probablement un double coût physiologique à la fin du printemps, lorsque les activités de reproduction (c'est-à-dire la production et l'incubation des œufs) commencent alors que les températures sont encore inférieures à 0-2°C.

**Mots clés :** *Oiseaux arctiques, Composition corporelle, BMR, Reproduction, Effets reportés, Acclimatation au froid, Stades d'histoire de la vie, Flexibilité phénotypique,  $M_{sum}$ , Thermorégulation.*

## 4.2 ABSTRACT

In birds, several body composition traits decrease in size or mass during breeding. However, a study in outdoor captive snow buntings (*Plectrophenax nivalis*) demonstrated a carry-over effect of winter cold acclimatization during the spring and summer, despite facing summer temperatures much warmer than on the breeding grounds. This suggests that bunting may face a double physiological cost during breeding, namely having to support a winter phenotype while upregulating other traits for reproduction. The current study aimed to test this hypothesis. Between 2016 and 2019, we examined how body composition and metabolic performance (thermogenic capacity and physiological maintenance costs) of birds captured at the northern limit of their breeding range in the Arctic (Alert, NU, 82°) changed from pre-breeding to chick provisioning. Our results show that while body mass and fat reserves decreased significantly between pre-breeding and territory defense independently from thermal conditions, cold endurance and associated traits remained stable and elevated as long as ambient temperature remained below a threshold temperature (0-2°C) that coincided with the nestling provisioning period. These latter results therefore suggest that snow bunting must maintain a high thermogenic capacity after arrival on the breeding grounds as long as temperatures remain below freezing, regardless of whether they are actively breeding or not. In this context, our research suggests that these birds likely experience a double physiological cost in late spring, when breeding activities (i.e., egg production and incubation) begin while temperatures are still below 0-2°C.

**Key words** : *Arctic birds, Body composition, Basal Metabolic rate, Breeding, Carry-over, Cold acclimatization, Life-history stages, Phenotypic flexibility, Summit metabolic rate, Thermoregulation*

### 4.3 INTRODUCTION

The annual cycle of migratory birds is composed of several life-history stages, including wintering, migratory and reproductive, which typically occur in a determined temporal sequence (Jacobs & Wingfield, 2000; Ramenofsky et al., 2003; Wingfield et al., 1999). However, in species experiencing short time windows for reproduction, such as those breeding at high latitudes or altitude, these life-history stages may also overlap in time (Ramenofsky & Wingfield, 2006, 2017). For example, Arctic breeding birds often experience substantial snow accumulation, sub-zero temperatures and unpredictable weather upon arrival on their breeding grounds (e.g., Møller 1983; Walsh et al. 2005 see also Morrison et al., 2007; Wingfield et al. 2011). Under such conditions, behavioral observations show that an overlap between winter and reproductive phenotypes may occur (Ramenofsky & Wingfield, 2006, 2017). Wingfield et al. (2004) have indeed reported winter behaviors, namely high sociability, hyperphagia and high mobility in white crowned sparrows (*Zonotrichia leucophrys gambelii*) facing harsh environmental conditions upon arrival on their breeding ground at Brook's Range (68°N), Alaska, behaviours that could be resumed later during the early stages of breeding if spring conditions deteriorated (Møller, 1983).

The occurrence of winter behaviors during the pre-breeding or breeding periods likely represent a way to cope with harsh or extreme conditions. However, other than endocrine regulation, which has received substantial attention (Wingfield et al., 2004; Ramenofsky et al., 2017 and see Ramenofsky and Wingfield, 2006 for a review) little is known about the underlying physiological adjustments implemented during these stage overlaps. In fact, taken separately, cold acclimatization and breeding involve significant morphological, physiological and metabolic changes to support energy demanding activities, which may or may not be compatible. For example, birds experiencing declines in temperatures typically respond by enlarging heart mass (Liknes & Swanson, 2011; Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Zheng et al., 2008), increasing blood oxygen carrying capacity (hematocrit, Swanson, 1990b; O'Connor, 1996) and flight muscle size (O'Connor, 1995; Cooper, 2002; Petit et al., 2013; Swanson and Vézina, 2015, but see Barceló et al., 2017; Milbergue et al., 2018), which collectively contribute to improving shivering heat production (Petit & Vézina, 2014a;

Swanson, 1990a). In contrast, breeding birds typically lose both fat and muscle mass (Jehl, 1997; Morrison, 2006; Morrison, Davidson, & Piersma, 2005; R. J. Smith & Moore, 2005; Vézina et al., 2012), experience declines in oxygen carrying capacity (Hatch & Smith, 2010; Krause, Németh, et al., 2016; Morrison, 2006; Morton, 1994) and develop large reproductive organs (Vézina & Salvante, 2010). At the moment, it is unclear to what degree these critical physiological transformations may overlap in time in support of breeding in cold environments such as the Arctic, especially considering that the timing of breeding can be closely tied to spring temperatures and snow cover (Condor et al., 1972; Fox et al., 1987; Grabowski et al., 2013; Høye et al., 2007; Moe et al., 2009).

Using captive snow buntings (*Plectrophenax nivalis*) for a model, Le Pogam et al (2021) recently showed that these Arctic cold specialists kept in outdoor aviaries on their wintering grounds (48°N) maintain thermogenic capacity and cold endurance comparable to the peak of winter over most of summer, which corresponds to their breeding activities in the Arctic. In other words, birds maintain a cold acclimated phenotype through summer temperatures warming to levels much above what is experienced on their Arctic breeding grounds (e.g., mean  $T_a$  in July and August: 20.3°C, range: 15.9-25.0°C), a finding that contrasts with previous studies showing ambient temperature as the main driver of thermogenic capacity in passerines (e.g., Saarela and Heldmaier, 1987; McKechnie and Swanson, 2010; Swanson, 2010; Swanson et al., 2014). Le Pogam et al (2021) concluded that the maintenance of winter-like cold endurance throughout summer could provide further downstream advantages given that these birds can face unpredictable and snowy sub-zero conditions while breeding (Moltofte, 1983).

Although observation in captive snow buntings are in accordance with behavioral evidences for life-history overlap in Arctic breeders (Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021; Moltofte, 1983; Tinbergen, 1939; Wingfield & Hunt, 2002) it remains that Le Pogam et al's (2021) study was based on captive individuals that could not breed. Yet, breeding can lead to considerable physiological effects, including the loss of body mass, oxygen carrying capacity and muscles, which could potentially reduce cold endurance

(Cooper, 2002; Dubois, Hallot, & Vézina, 2016; Jenni et al., 2006; O'Connor, 1995). Furthermore, since the transition from a pre-breeding to a reproductive stage also involves considerable morphological changes, it is currently unclear whether and for how long these birds can maintain winter levels of cold endurance as birds transition into a reproductive phenotype and actively breed. It should be mentioned, that recent evidence has also shown that shivering heat production and cold endurance can vary independently from variation in muscle size (Le Pogam et al., 2020; Milbergue, Blier, & Vézina, 2018; Stager, Swanson, & Cheviron, 2015) and from changes in other physiological systems (Barceló, Love, & Vézina, 2017; Petit, Lewden, & Vézina, 2013). Therefore, patterns observed in captive birds could in fact reflect true endogenous cycles in buntings adapted to breed in cold, unpredictable Arctic environments (Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021).

Based on these recent discoveries, our study was designed to investigate how the transition into breeding stages would influence metabolic performance and associated traits in snow buntings and determine how spring thermal conditions may influence this pattern. Within this objective we formulated three hypotheses. First (*Hypothesis 1*, Fig. 4.1), snow buntings could maintain a winter-type phenotype for traits related to cold endurance into breeding to safeguard against unpredictable sudden cold conditions (Le Pogam et al 2021). In this case, we would expect birds to maintain traits (Table 4.1) at constant winter levels as they transition from pre-breeding to territorial defense and breeding, and that independently from environmental conditions (i.e., temperature). Second (*Hypothesis 2*, Fig. 4.1), cold endurance traits (Table 4.1) could be mainly driven by thermal conditions (McKechnie & Swanson, 2010; S. Saarela & Heldmaier, 1987; Swanson, 2010; Swanson et al., 2014), independently from breeding phenotypes. We would then expect performance traits to respond only to temperature, irrespective of the birds' breeding stages. In this scenario, as winter phenotypes appear to come with spare capacity, expressed as performance trait values plateauing below a certain ambient temperature (Petit & Vézina, 2014b; Swanson & Vézina, 2015; Vézina et al., 2020), one would expect snow buntings to lose cold endurance only when rising temperature reach a certain threshold value. The birds would then undergo physiological changes and lose cold endurance rapidly in early spring years or maintain

capacity longer when cold conditions last later into the season. The third hypothesis (*Hypothesis 3*, Fig. 4.1) posits that snow buntings are unable to maintain a winter-type phenotype for traits related to cold endurance (Table 4.1) while breeding. Therefore, in this specific case, one would expect metabolic performance parameters to drop as birds transition into breeding, irrespective of spring temperatures. To test these hypotheses, we examined inter-annual variation in phenotypic traits and metabolic performance in free-living buntings captured at the pre-breeding stage (i.e., transition stage between arrival and dispersal onto breeding territories), during male territorial establishment, and during breeding, and then examined how variation in temperature conditions influenced phenotypic patterns.

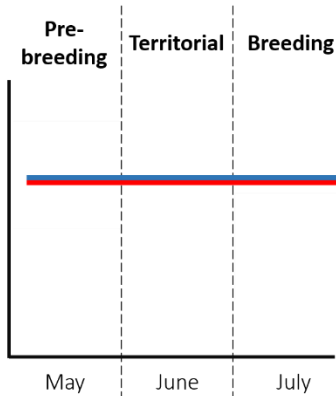
**Table 4.1** List of phenotypic traits measured in this study and their responses to cold in passerine birds.

<b>Metabolic performance</b>			
<b>Phenotypic traits</b>	<b>Interpreted as</b>	<b>Response to cold</b>	<b>Pertinent references</b>
Summit metabolic rate ( $M_{sum}$ )	Maximum shivering thermogenic capacity, index of cold endurance	Typically higher	<i>McKechnie and Swanson, 2010; Swanson, 2010; Petit et al., 2013; McKechnie et al., 2015; Le Pogam et al., 2020</i>
Basal metabolic rate (BMR)	Maintenance energy expenditure, index of physiological maintenance costs	Often higher but not in snow buntings	<i>McKechnie and Swanson, 2010; Swanson, 2010; Petit et al., 2013; McKechnie et al., 2015 but see Le Pogam et al., 2020</i>
<b>Phenotypic traits underlying metabolic performance</b>			
<b>Phenotypic traits</b>	<b>Interpreted as</b>	<b>Response to cold</b>	<b>Pertinent references</b>
Body mass	Total body composition	Typically higher	<i>Carey et al., 1978; Liknes and Swanson, 1996; Zheng et al., 2008; Petit et al., 2014; Le Pogam et al., 2020</i>
Fat store	Energy reserves	Typically higher	<i>Blem, 1976; Lehtikoinen, 1987; Gosler, 1996; Cooper, 2007; Le Pogam et al., 2020</i>
Hematocrit	Blood oxygen carrying capacity	Typically higher	<i>Swanson, 1990b; O'Connor, 1996; Le Pogam et al., 2020</i>
Pectoralis muscle thickness	Shivering capacity	Typically increases with high metabolic rate	<i>O'Connor, 1995; Cooper, 2002; Swanson and Merkord, 2012; Petit et al., 2013; Swanson and Vézina, 2015; Le Pogam et al., 2020</i>

**Objective:**

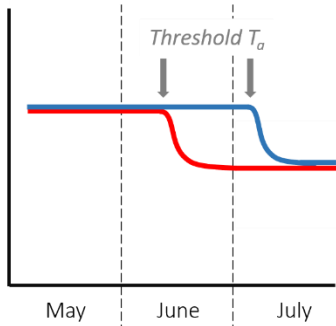
Investigate how the transition into breeding stages influence metabolic performance and associated traits in buntings and determine how spring thermal conditions may influence this patterns.

**Summer**  
Alert (Nunavut)



**Hypothesis 1: Maintenance of winter phenotype during breeding**

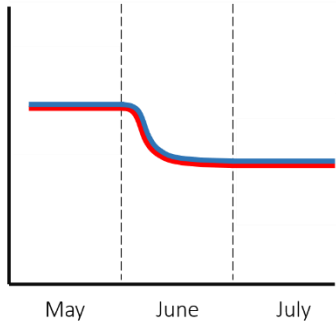
- Cold endurance traits are maintained at winter level from pre-breeding to breeding to protect against sudden and unpredictable cold conditions
- No effect of LH-stages,  $T_a$  and year



**Hypothesis 2: Changes in traits and metabolic performance with thermal conditions**

- Loss of cold endurance earlier in early springs (red line) and maintenance of cold endurance longer in delayed springs (blue line)
- Decline triggered at threshold  $T_a$
- Effect of  $T_a$  and year
- No effect of LH-stages

— Cold conditions (delayed spring)  
— Warm conditions (early spring)



**Hypothesis 3: Inability to maintain a winter-type phenotype while breeding**

- Decline of metabolic performance with LH-stages
- Effect of LH-stages
- No effect of  $T_a$  and year

**Phenotypic transition from pre-breeding to the end of summer**

**Figure 4.1** Visual representation of the 3 hypotheses tested in this study. Buntings could either maintain a winter-type phenotype through breeding (hypothesis 1), loose cold endurance when ambient temperature rise above a certain threshold, independently from breeding (hypothesis 2) or be unable to maintain cold endurance while breeding, irrespective of temperature (hypothesis 3) See text in figure and introduction for more details.



## 4.4 MATERIALS AND METHODS

### 4.4.1 Study species

Snow bunting is an Arctic-breeding, migratory passerine known for its ability to endure cold environments (Le Pogam et al., 2020; Scholander, Hock, Walters, & Johnson, 1950). In the spring birds migrate through cold winter landscapes (Macdonald et al., 2012; McKinnon et al., 2016; Snell et al., 2018), with males arriving on their breeding grounds to secure territories (up to 83.6°N) up to a month before females (March-April, Cramp & Perrins, 1994; McKinnon et al., 2016; Montgomerie & Lyon, 2020; Snell et al., 2018). Arrival conditions can be comparable or worse than those experienced at the peak of winter, with extensive snow cover and air temperatures ( $T_a$ ) reaching  $-30^{\circ}\text{C}$  (Meltofte, 1983). Buntings are known to arrive on the breeding ground with winter level cold endurance (Le Pogam, O'Connor, Love, Drolet, et al., 2021) and can maintain winter-type behaviour for several weeks before dispersing to defend breeding territories (Meltofte, 1983; Tinbergen, 1939).

### 4.4.2 Study sites, capture and measurements protocol

Snow buntings were studied in the Arctic during the springs of 2016 to 2019 at Alert, Nunavut, Canada ( $82^{\circ}29'58''\text{N}$ ,  $62^{\circ}28'5''\text{W}$ ). For this study, we distinguished 3 life-history stages (LH-stages): (1) the transition stage between arrival and dispersal onto breeding territories (hereafter pre-breeding,  $n = 266$  birds), (2) the stage during which males sing and display to defend territories (hereafter territorial,  $n = 66$  birds) and, (3) the period during which males and females were paired (hereafter breeding). This last stage includes pair formation ( $n = 11$ ), nest building ( $n = 5$ ), egg laying ( $n = 3$ ), incubation ( $n = 6$ ) and nestling provisioning ( $n = 21$ ). Sample sizes for each sub-stage were too small to consider them separately in analyses, and as such they were combined into one breeding stage category ( $n = 46$ ).

At the pre-breeding stage, birds were caught with homemade walk-in traps or potter traps (Third Wheel, Devon, England) baited with commercial seed-mix (crushed corn, wheat, sorghum, white millet, red millet and black sunflower, Armstrong, Hagersville, ON, Canada).

During the territorial and breeding stages, individuals were attracted to a double potter trap using song playback and a live male bunting as a decoy in one side of the trap. Birds were then captured on the other side of the trap or with spring traps (TWB45 Moudry, Říčany, Czech Republic) set close by.

Immediately after capture, a blood sample ( $< 1\%$  of  $M_b$ ) was taken from the brachial vein. Blood samples were temporarily kept in cold storage and later centrifuged for 10 minutes at 8,000 RPM to obtain data on hematocrit (i.e., packed red blood cell volume). The birds were then weighed ( $\pm 0.01$  g), and sexed according to Smith (1992). We banded birds with a USGS numbered metal band as well as a unique combination of three darvic color bands to allow for identification from a distance. Morphometric measurements, namely length of head plus beak, tarsus, tail and right wing, were taken to calculate a “structural body size index” (see below). The size of fat stores was also estimated visually using a standard fat score (from 0 = no visible fat in furculum area to 6 = fat overlapping pectoralis muscles, Canadian Snow Bunting Network, 2011). The birds were then brought into our field laboratory (less than 6 km distance from capture site, transport time  $< 20$  minutes) where we estimated pectoralis muscle thickness non-invasively by ultrasonography (Dietz et al., 1999; Le Pogam et al., 2020; Le Pogam, O’Connor, Love, Petit, et al., 2021; Royer-Boutin et al., 2015) using a LOGIQe ultrasound scanner fitted with a linear probe (12MHz, GE Healthcare, Wauwatosa, WI, USA). Since the supracoracoideus muscle is very thin at the measured location, muscle thickness values essentially reflect thickness of the pectoralis muscle. Birds were then kept in cages (76 cm W  $\times$  46 cm D  $\times$  45 cm H) with *ad libitum* water and seed (same mix as for captures) until metabolic performance measurements were complete (see below). In total, between 2016 and 2019, 311 males and 67 females were caught and banded during the breeding season (see suppl. Table A.4 for specific sample sizes).

#### 4.4.3 Metabolic performance

For metabolic performance measurements, we used the set-up and protocol described in detail by Le Pogam et al., 2020; Le Pogam, O’Connor, Love, Drolet, et al., 2021; Le Pogam, O’Connor, Love, Petit, et al., 2021, except that the oxygen analyzers used at Alert were two

Sable Systems Foxboxes (Sable Systems, Las Vegas, NV, USA). Key points specific to this study are presented as follow.

Summit metabolic rate was measured on a maximum of two birds simultaneously, allowing up to two trials per day. Depending on the time of capture, measurements began between 08:50 and 22:45 (average: 14h45  $\pm$  2.89h; duration: 1h32  $\pm$  0.72h). Measurements took place at least one hour after ultrasound measurements. Birds were placed inside stainless steel metabolic chambers (effective volume 1.5L) and exposed to dry, CO<sub>2</sub>-free air for 10 minutes at -18°C (flow rate of 1200 mL.min<sup>-1</sup>), before switching to a helox gas mixture (21% oxygen, 79% helium, Rosenmann & Morrison, 1974). Chamber temperature was then lowered by 3°C every 20 minutes until birds became hypothermic (decline of  $\dot{V}O_2$  for several minutes) or reached the end of the trial. Six measurements out of 85 (7%) involved birds that were not hypothermic at the end of the trial (cloacal temperature  $\geq$  37°C, Swanson and Liknes, 2006). However, since hypothermia is not a prerequisite to confirm  $M_{sum}$  (Dutenhoffer & Swanson, 1996), we opted to include these individuals in final analyses. Removing them had no influence on results. Basal metabolic rates were measured overnight on a maximum of four birds simultaneously. BMR trials began between 18:25 and 1:26 (average start time: 19h38  $\pm$  5.07h). We insured a minimum 1h of rest after the  $M_{sum}$  measurements. Using the same metabolic chambers as for  $M_{sum}$ , birds were exposed to 25 °C, a temperature within snow bunting's thermoneutral zone (Scholander et al. 1950a) and received dry CO<sub>2</sub>-free air (650 ml min<sup>-1</sup>) for the duration of trials (12h49  $\pm$  5.9h on average). Birds were weighed ( $\pm$ 0.01 g) before and after measurements, and average  $M_b$  was used in BMR analyses. We used a sampling frequency of 5 sec for  $M_{sum}$  and 20 sec for BMR. Both  $M_{sum}$  and BMR were calculated from the highest and lowest averaged 10 min trace of  $\dot{V}O_2$ , respectively, using equation 10.1 from Lighton (2019), using the instantaneous measurement technique (Bartholomew, Vleck, & Vleck, 1981) for  $M_{sum}$ . The duration of BMR trials insured that birds were post-absorptive at the time of BMR measurement. We estimated energy expenditure for all metabolic measurements using a constant equivalent of 19.8 kJ L<sup>-1</sup>O<sub>2</sub> and converted units to Watts (Gessaman & Nagy, 1988).

#### 4.4.4 Weather data

Weather data were obtained from the Environment and Climate Change Canada Alert weather station (i.e., our study site).

#### 4.4.5 Statistical analysis

This study investigated responses in 379 birds (see suppl. Table A.4 for specific variables). Our objective was aimed at determining how the transition into breeding stages influenced metabolic performance and associated traits and whether variation in spring temperatures could influence these patterns. We therefore proceeded in 2 steps. First we used general linear models with  $M_b$ , fat score, hematocrit, pectoralis muscle thickness,  $M_{sum}$  and BMR as separate response variables. All models included year, LH-stage (i.e., pre-breeding, territorial and breeding), mean ambient temperature (hereafter  $T_a$ ) and their interactions as predictor variables. We chose to use the 7-day mean temperature (6 days prior to capture + day of capture) because earlier reports showed that metabolic performance responds to relatively short term variation in temperature (short and medium term variation as presented by Swanson and Olmstead, 1999). We also added time at capture (for  $M_b$  and fat score), structural size (for  $M_b$  and pectoralis muscle thickness), keel height (for pectoralis muscle thickness) and  $M_b$  and length of captivity (for  $M_{sum}$  and BMR) as covariates in models. Since several structural size parameters were collected for the same individual, the estimate of "structural body size" was based on the first component obtained from a principal component analysis combining variation in the lengths of head plus beak, wing and tail (Rising and Somers 1989). Since females do not have a "territorial" stage (only males defend territories (Tinbergen, 1939)), the variable "sex" was not include in these models.

In the second step, we scrutinized how pectoralis muscle thickness, hematocrit and mass-independent  $M_{sum}$  varied with  $T_a$  in interaction with LH-stage and/or year. These variables were the only ones where significant interactions were found (see Results). Linear regression analyses were therefore performed per year and/or per LH-stage. We used piecewise linear regression models to determine whether response variables declined from a given threshold  $T_a$  and to determine the temperature at the inflection point. In this particular

set of analyses, we used the residuals of  $M_{\text{sum}}$  corrected for body mass (hereafter mass-residuals  $M_{\text{sum}}$ ) and residuals of pectoralis muscle thickness corrected for keel height. Since that covariate aims at controlling for ultrasound probe position on pectoralis muscles, we called this “probe-residuals muscle thickness”.

Visual inspection of residuals confirmed assumptions of normality and homogeneity for all models. All analyses were conducted using JMP pro (14.0.0) and data are presented as mean  $\pm$  standard error of the mean (s.e.m.). Effects were considered significant and retained in models when  $P < 0.05$  and interactions were retained when  $P \leq 1$ . Based on these criteria, we report only the final simplest models.

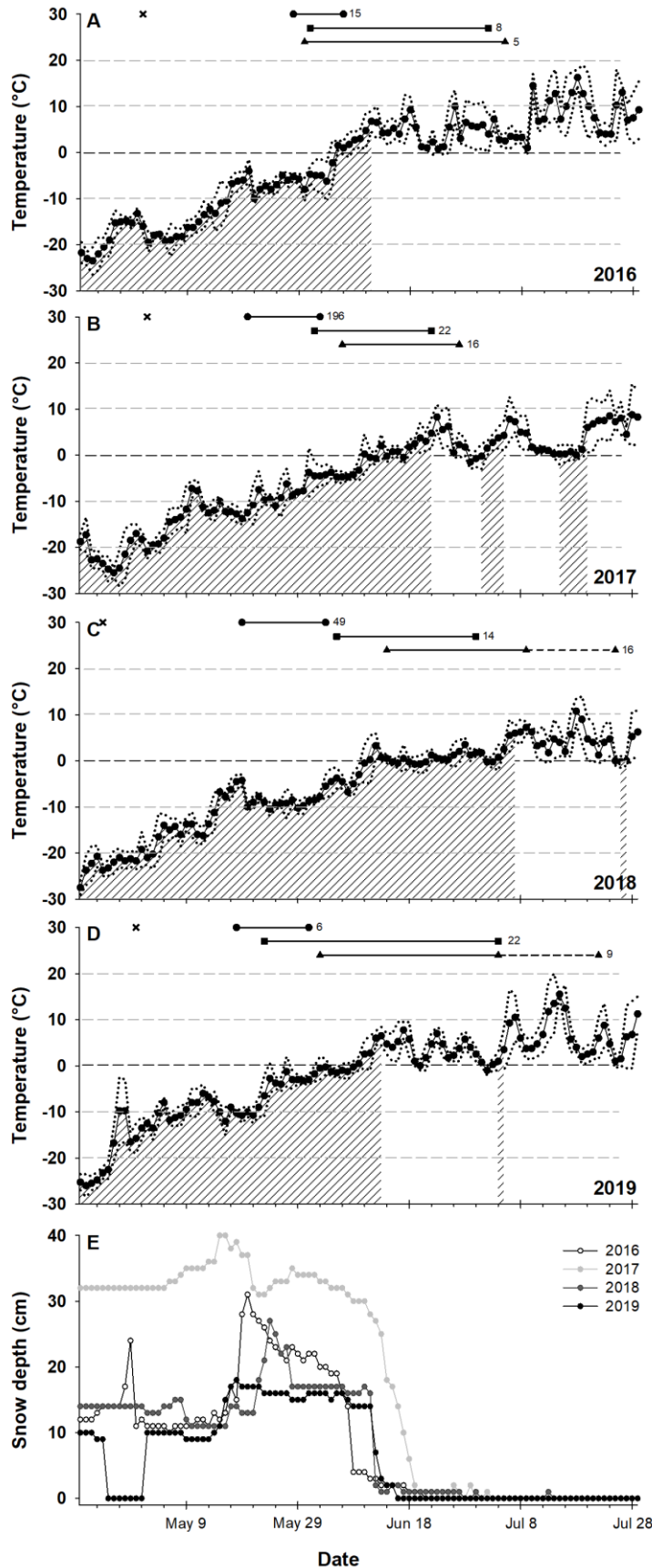
## 4.5 RESULTS

### 4.5.1 Weather conditions

At Alert, daily  $T_a$  exceeded  $0^\circ\text{C}$  at the earliest on June 2 in 2019 and at the latest on June 11 in 2018 (Fig. 4.2). 2016 and 2019 were years with the fastest temperature increases (Fig. 4.2, Table 4.2). However, there was more snow on the ground and rapid snow melt occurred up to 10 days later in 2017 than in other years (Fig. 4.2).

**Table 4.2** Average monthly ambient air temperatures during the breeding season recorded at Alert (NU) between 2016 and 2019. Letters indicate significant differences (Tukey's HSD  $P < 0.05$ ) between years within months.

Ambient air temperature $T_a$ ( $^\circ\text{C}$ ) at Alert				
Mean $T_a$ per year (Alert)	2016	2017	2018	2019
April	$-24.5 \pm 6.3^a$	$-22.5 \pm 3.3^a$	$-24.7 \pm 2.7^a$	$-22.7 \pm 5.0^a$
May	$-11.4 \pm 5.3^a$	$-11.8 \pm 4.1^a$	$-11.7 \pm 4.4^a$	$-8.1 \pm 3.6^b$
June	$3.1 \pm 3.9^a$	$0.03 \pm 3.6^b$	$-1.2 \pm 3.2^b$	$2.6 \pm 2.9^a$
July	$8.1 \pm 4.3^a$	$4.2 \pm 3.1^b$	$3.9 \pm 2.9^b$	$6.1 \pm 4.5^{ab}$



**Figure 4.2** Ambient air temperatures (A, B, C and D) and snow depth (E), at Alert, Nunavut, Canada during spring (2016 to 2019). Temperature data show mean daily values (*dots*) as well as the recorded range of daily minimum and maximum values (*dotted lines*). The hatched period corresponds to the days when the average temperature over 7 days was equal or lower than 1.9°C, the threshold temperature for  $M_{sum}$  (see main text). The life history (LH) - stages of snow buntings used in this study are represented as lines above each graph (A to D) with the top line being pre-breeding, the middle establishment of territories, and the bottom breeding. The dotted line portion in 2018 and 2019 corresponds to the nestling provisioning stage. The X symbol represent the dates of first observation of birds on the study site. Others symbols represent the first and last capture of pre-breeding (●), territorial (■) and breeding (▲) individuals. Numbers at the right of each line represent sample sizes.

#### 4.5.2 Effects of LH-stages and $T_a$ on metabolic performance and associated traits

Controlling for the effect of time at capture and body size,  $M_b$  was significantly affected by LH-stage but not by  $T_a$  or year (Table 4.3).  $M_b$  was 14.4% higher during pre-breeding than during territorial defense (Tukey's HSD  $P < 0.0001$ ) and  $M_b$  at that latter stage did not differ from that measured during breeding (pre-breeding vs breeding: Tukey's HSD  $P < 0.0001$ , Fig. 4.3A). Fat score followed a similar pattern (Table 4.3), with birds carrying less fat during territorial defense (pre-breeding vs territorial: Tukey's HSD  $P < 0.0001$ ) and during breeding (pre-breeding vs breeding: Tukey's HSD  $P < 0.005$ ) than at pre-breeding (Fig. 4.3B).

The influence of temperature on hematocrit was dependent on both LH-stage and year (see interaction terms in Table 4.3). Regressions performed within LH-stages showed that hematocrit decreased as  $T_a$  increased, but only during breeding (Fig. 4.4). Piecewise linear regression combining all data showed no inflection point for hematocrit.

Pectoralis muscle thickness varied among both years and LH-stages (Table 4.3). However, these effects occurred in interaction with  $T_a$  (see interaction terms in Table 4.3). Regression analyses per LH-stages revealed that probe-residuals muscle thickness decreased with warming  $T_a$  only during breeding (Fig. 4.5). Regressions per year showed a significant negative relationship between mass-residuals muscle thickness and  $T_a$ , but only in 2017 (Fig. 4.5). Piecewise regression combining all data revealed an inflection point at  $0.1 \pm 1.6^\circ\text{C}$  (Fig. 4.7A). Above that temperature, mass-residuals muscle thickness declined with increasing  $T_a$  (Fig. 4.7A).

Summit metabolic rate, whether considered whole (not shown) or corrected for  $M_b$  differed among years and LH-stages, but both these effects depended on  $T_a$  (interaction terms in Table 4.3). As for hematocrit and pectoralis muscle thickness, regressions within LH-stages showed a negative linear relationship between mass-residuals  $M_{\text{sum}}$  and  $T_a$  only during breeding (Fig. 4.6). Regressions analyses per year also showed a negative relationship between mass-residuals  $M_{\text{sum}}$  and  $T_a$  but only in 2019 (Fig. 4.6). Piecewise regression

performed on all data highlighted an inflection point at  $1.9 \pm 2.6^\circ\text{C}$  (Fig. 4.7B). Above that temperature, mass-residuals  $M_{\text{sum}}$  declined with warming temperature (Fig. 4.7B).

Whole basal metabolic rate varied with LH-stage ( $F_{2,146} = 21.7$ ,  $P < 0.001$ , not shown) but this effect was driven by the loss of  $M_b$  among stages (Fig 4.3). Considering the significant influence of  $M_b$  (in addition to that of length of captivity), we found no significant influence of year,  $T_a$  or LH-stage on BMR (Table 4.3). Maintenance costs remained constant at  $0.56 \pm 0.01\text{W}$  from spring to end of summer.

**Table 4.3** Linear mixed effects models comparing phenotypic traits among life-history stages in snow buntings breeding at Alert, Nunavut, Canada. Models also included covariates meaningful to specific dependent variables. See text for details.

Variable	Body mass			Fat score		
	df	<i>F</i>	<i>P</i>	df	<i>F</i>	<i>P</i>
$T_a$ mean	1,357	0.0035	0.95	1,364	0.21	0.65
Year	3,355	0.21	0.89	3,362	0.21	0.89
LH-stage	<b>2,356</b>	<b>28.95</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>2,363</b>	<b>18.74</b>	<b>&lt;0.0001</b>
LH-stage x Year	-	-	-	-	-	-
LH-stage x $T_a$ mean	-	-	-	-	-	-
Year x $T_a$ mean	-	-	-	-	-	-
Year x LH-stage x $T_a$ mean	-	-	-	-	-	-
<i>Time at capture</i>	<b>1,357</b>	<b>5.36</b>	<b>0.02</b>	1,364	3.41	0.07
<i>Structural size</i>	<b>1,357</b>	<b>40.68</b>	<b>&lt;0.0001</b>	NA	NA	NA

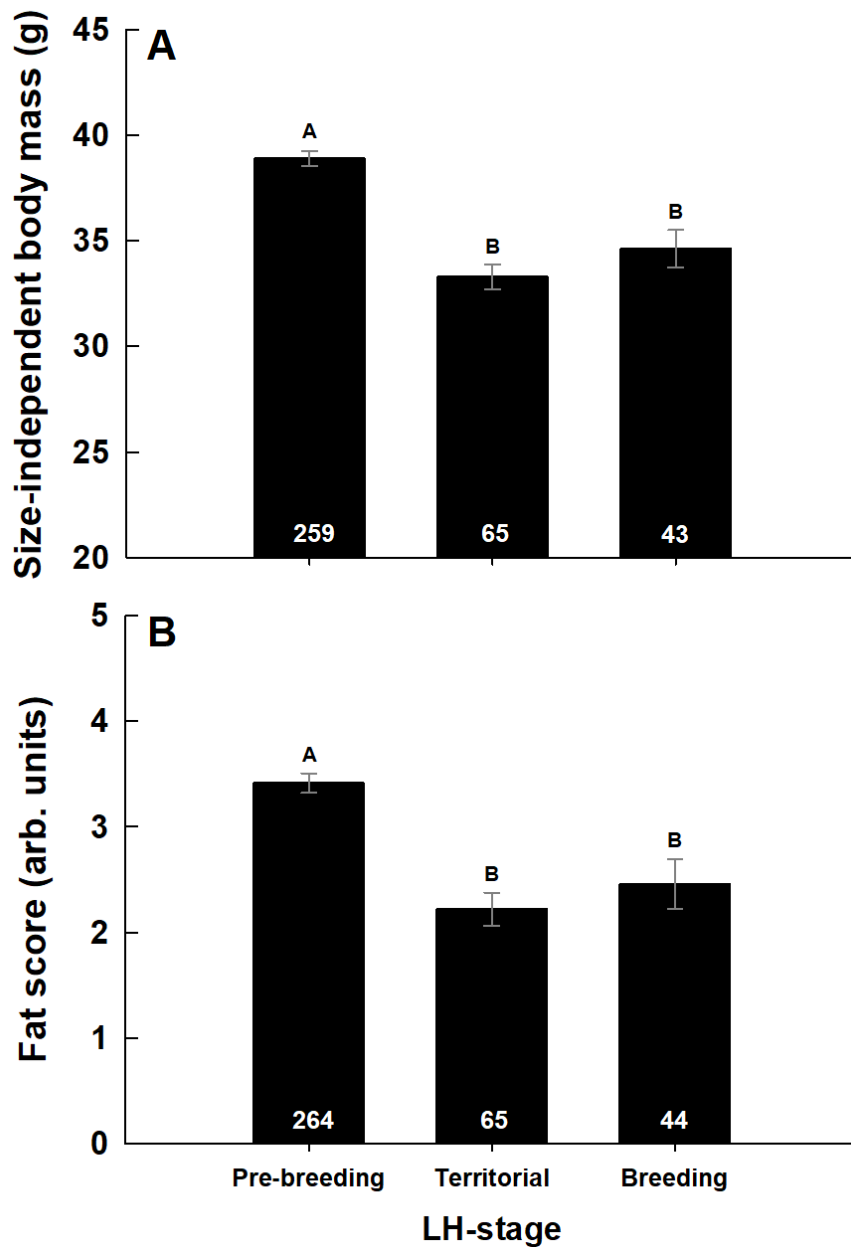
  

Variable	Hematocrit			Pectoralis muscle thickness		
	df	<i>F</i>	<i>P</i>	df	<i>F</i>	<i>P</i>
$T_a$ mean	<b>1,232</b>	<b>4.06</b>	<b>0.05</b>	1,185	0.63	0.43
Year	3,230	1.62	0.18	<b>3,183</b>	<b>4.38</b>	<b>0.005</b>
LH-stage	2,231	1.47	0.23	<b>2,184</b>	<b>4.54</b>	<b>0.01</b>
LH-stage x Year	<b>6,227</b>	<b>3.71</b>	<b>0.002</b>	-	-	-
LH-stage x $T_a$ mean	2,231	0.84	0.43	<b>2,184</b>	<b>11.08</b>	<b>&lt;0.0001</b>
Year x $T_a$ mean	3,230	1.96	0.12	<b>3,183</b>	<b>4.24</b>	<b>0.006</b>
Year x LH-stage x $T_a$ mean	<b>6,227</b>	<b>2.20</b>	<b>0.04</b>	-	-	-
<i>Keel height</i>	NA	NA	NA	<b>1,185</b>	<b>276.09</b>	<b>&lt;0.0001</b>

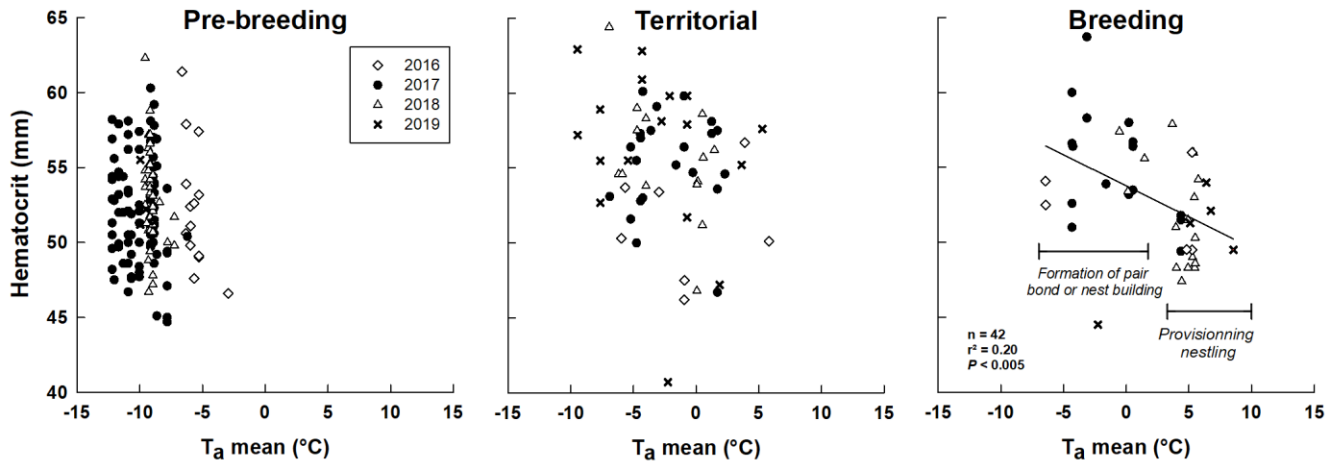
  

Variable	Mass-independent $M_{\text{sum}}$			Mass-independent BMR		
	df	<i>F</i>	<i>P</i>	df	<i>F</i>	<i>P</i>
$T_a$ mean	1,72	1.83	0.18	1,146	0.07	0.80
Year	<b>2,71</b>	<b>7.42</b>	<b>0.001</b>	3,144	0.85	0.47
LH-stage	2,71	2.56	0.08	2,145	0.54	0.58
LH-stage x Year	-	-	-	-	-	-
LH-stage x $T_a$ mean	<b>2,71</b>	<b>3.95</b>	<b>0.02</b>	-	-	-
Year x $T_a$ mean	<b>2,71</b>	<b>3.37</b>	<b>0.04</b>	-	-	-
Year x LH-stage x $T_a$ mean	-	-	-	-	-	-
<i>Mass</i>	<b>1,72</b>	<b>7.98</b>	<b>0.006</b>	<b>1,146</b>	<b>56.41</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<i>Length of captivity</i>	NA	NA	NA	<b>1,146</b>	<b>8.51</b>	<b>0.004</b>

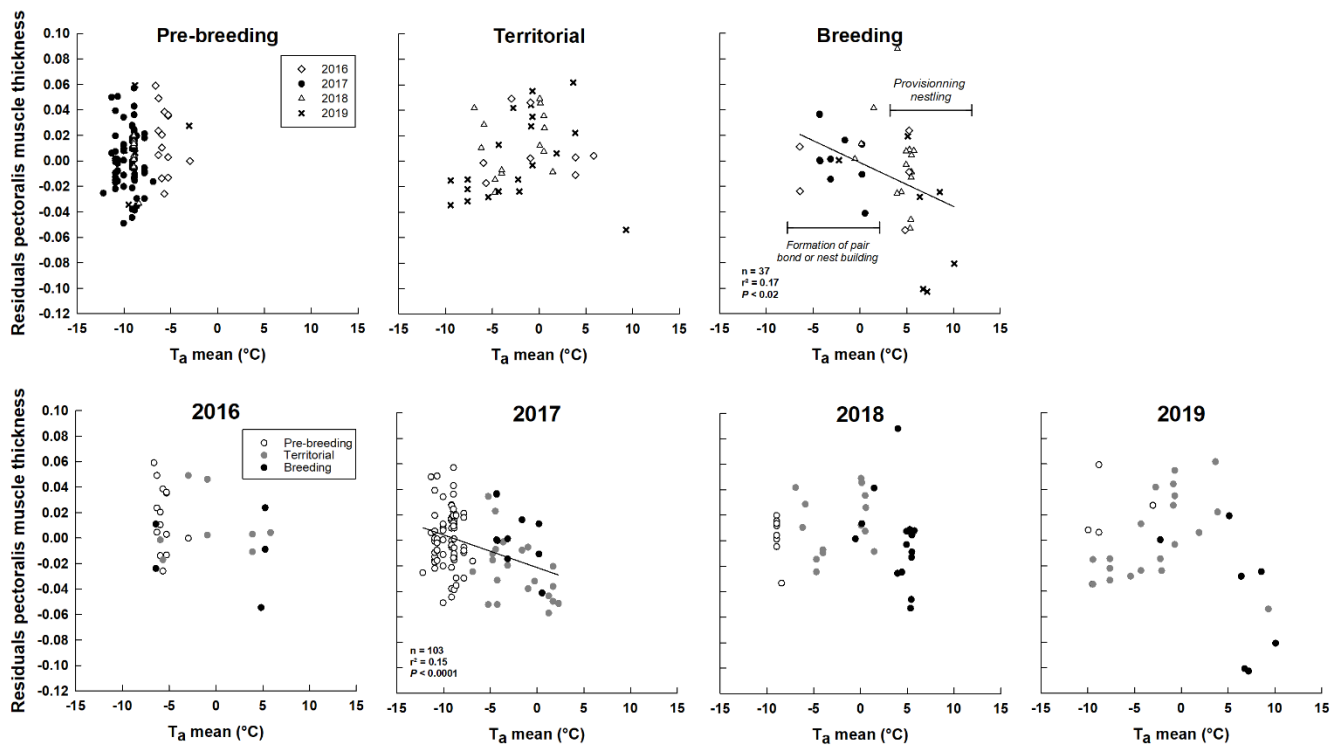




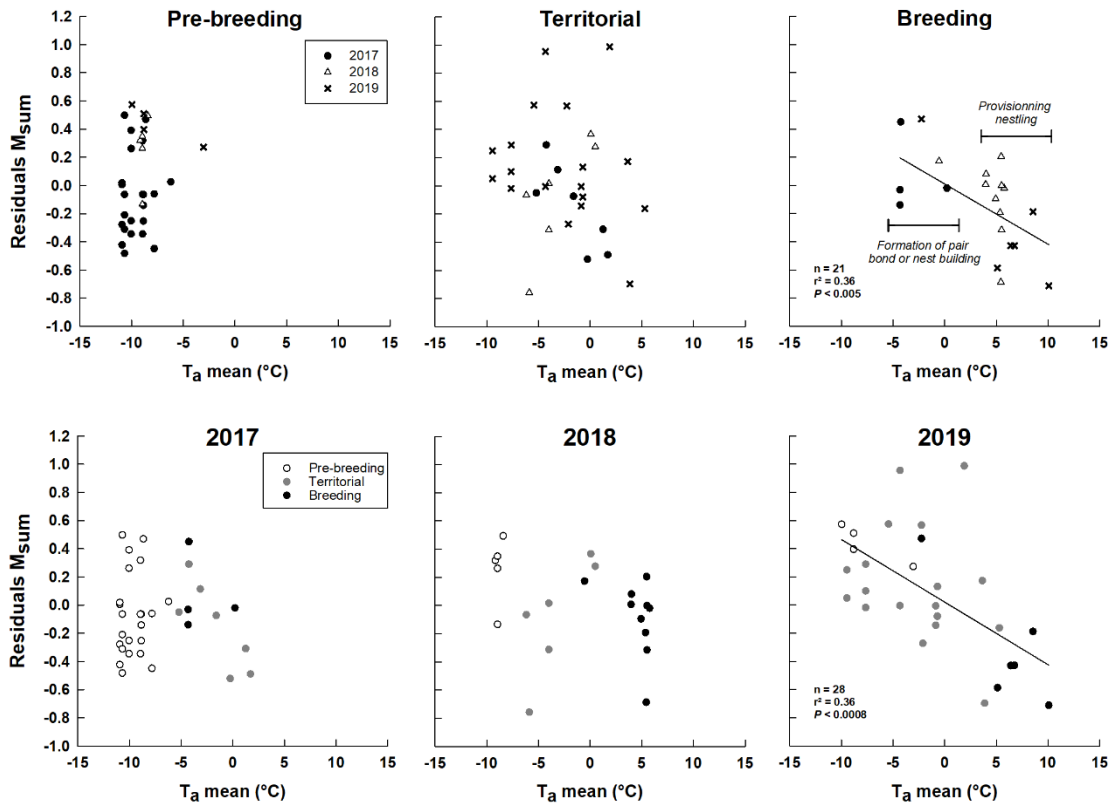
**Figure 4.3** The effect of life history (LH) -stage on size-independent body mass (A) and fat score (B) in snow bunting breeding at Alert, Nunavut, Canada. Letters indicate significant differences (Tukey's HSD  $P < 0.05$ ). Numbers within bars indicate sample size for each group. Values presented as mean  $\pm$  SEM.



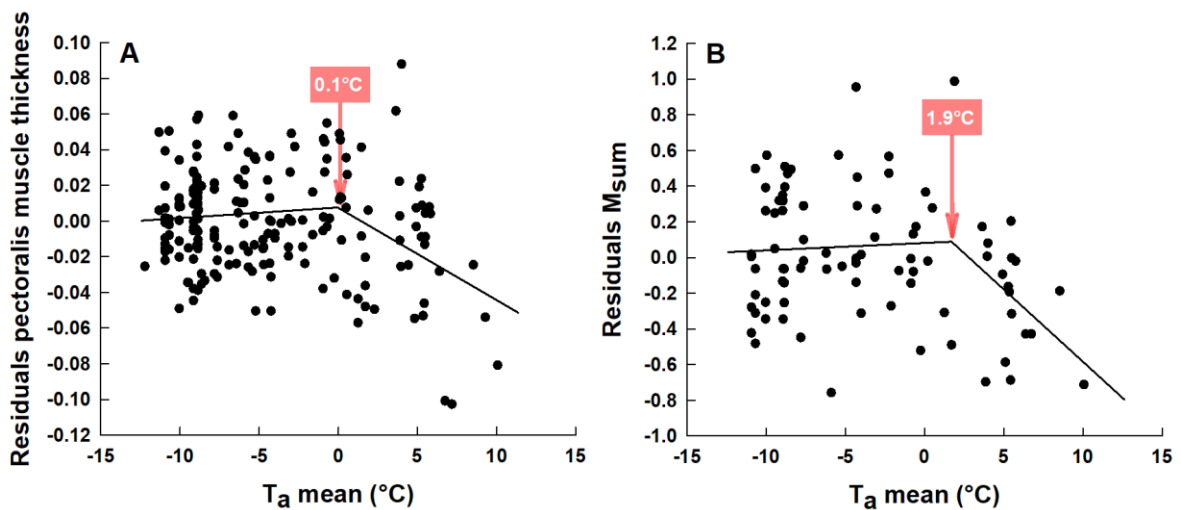
**Figure 4.4** Relationship between hematocrit and ambient air temperature in relation to life history stages in snow buntings breeding at Alert, Nunavut, Canada.



**Figure 4.5** Relationships between probe-residuals of pectoralis muscle thickness and ambient air temperature in relation to life-history stages and year in snow buntings at Alert, Nunavut, Canada.



**Figure 4.6** Relationship between mass-residuals of  $M_{sum}$  and ambient air temperature according to life-history stages and year in snow buntings at Alert, Nunavut, Canada.



**Figure 4.7** Relationship between probe-residuals of muscle thickness and ambient temperature (A) and between mass-residuals of  $M_{sum}$  and ambient air temperature (B) in snow buntings at Alert, Nunavut, Canada. Temperature values and arrow show the inflexion points for these two parameters.

## 4.6 DISCUSSION

The objective of this study was to examine whether metabolic performance and associated traits remained at their winter level during breeding, or whether performance declined in response to temperature and/or breeding stages. Overall, although all traits did not show the same pattern, our results suggest that in snow buntings, thermogenic capacity declines while breeding, but only once when temperatures rise above freezing. This therefore implies potentially additive costs of thermoregulation and reproduction in the early stages of breeding during late spring years.

### 4.6.1 Body mass and fat storage decline as birds begin to breed

After considering the effects of structural body size and time at capture, both body mass and fat scores were only affected by breeding stages in snow buntings. Indeed, mass and fat scores both declined from pre-breeding to the territorial stage and then remained low thereafter during breeding. As this finding was independent from the effects of temperature and year, these results support the idea that birds could not maintain mass and energy stores at winter levels while breeding (*Hypothesis 3*, Fig. 4.1).

A decline in body mass and fat stores during the establishment of breeding territories is quite common in passerines (e.g., King et al., 1965; Ramenofsky and Wingfield, 2006; Krause et al., 2016b). For species breeding at high latitudes, this phenomenon generally coincides with the dispersal of post-arrival flocks and the secretion of reproductive hormones (see Ramenofsky and Wingfield, 2006 for a review). Snow buntings also become very active as they initiate breeding activities. For example, the period of territorial defense is characterized by high rates of singing in males, courtship displays where the birds climb in altitude and sign while gliding down as well as physical fights between competing males (Guindre-Parker, Gilchrist, et al., 2013; Guindre-Parker, Grant Gilchrist, et al., 2013; Romero et al., 1998; Tinbergen, 1939). Once breeding pairs have formed, males and females are highly mobile during nest building and both adults maintain high rates of nestling provisioning after the eggs have hatched (Lyon, Montgomerie, & Hamilton, 1987; Tinbergen, 1939), with daily resting periods typically being limited to 3-5h per day (Hussell,

1972). In fact, nestling growth rates in snow buntings are among the highest in passerines of that size, being only 8-10 days from hatching to fledging, with nestlings unable to fly at fledging (Hussell, 1972). With the high energy cost of flapping flight in birds (Hedenstrom, 1993) and the busy schedule of breeding snow buntings, it may simply not be possible for these birds to maintain body mass and fat stores at winter levels, even if thermal conditions can be highly unpredictable in the Arctic (Table 4.2). Alternatively, but not exclusively, maintaining a lower body mass at these stages could also be adaptive as it reduces flight costs during a period of high energy demand (Boyle, Winkler, & Guglielmo, 2012; Merkle & Barclay, 1996; Nagy, Stanculescu, & Holmes, 2007).

While the variation in body mass and fat stores reported here is consistent with that of other free-living species, it contrasts with previous observations in captive snow buntings (Vincent and Bédard, 1976; Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021). Both Vincent and Bédard (1976) and Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., (2021) observed that when maintained at their wintering latitude throughout summer, this species maintains body mass and fat stores above their winter average until at least the end of June. Similar observations have also been made in other captive migrant species (Eyster, 1954; Gwinner & Czeschlik, 1978; Lewis, 1975; Schwabl et al., 1989), which have led others to hypothesize that different endocrine responses, lack of visual cues or reproductive opportunities in captivity (Gwinner & Czeschlik, 1978; Schwabl et al., 1989) could trigger this effect. Although this is possible, captive studies have also shown strong endogenous regulation of seasonal cycles in migrant species (Karagicheva et al., 2016; Piersma, 2002; Piersma, Cadée, & Daan, 1995; Ramenofsky & Wingfield, 2006; Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011). It could therefore also be that snow buntings are pre-programmed, via their endogenous circannual cycle, to maintain high energy intake rates during breeding as this occurs at a time of very high daily energy expenditure (Karagicheva et al., 2016; Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011). In free-living breeding conditions, this would be enough to balance energy budgets and maintain stable (but lower) mass, while in captivity maintaining high intake rates in birds not able to breed could lead to fat stores and body mass comparable to wintering levels.

#### **4.6.2 Maintenance costs decline with breeding, but cold endurance traits respond to warming temperatures**

Basal metabolic rate is interpreted as a measure of physiological maintenance costs and is thought to reflect changes in the activity and amount of tissues forming an animal (Piersma et al., 1996, 2004; Piersma & Lindström, 1997; Swanson et al., 2017). We found that total maintenance costs declined as birds lost body mass with territorial defense and breeding, but that tissue metabolic intensity (mass corrected BMR) remained constant. We also found that these patterns were independent from variation in ambient temperature. Since territorial defense and nestling provisioning are intensive energy demanding activities for snow buntings, lower overall maintenance costs could be beneficial to balance energy budgets at that time (Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017). This finding contrasts with an earlier report of increasing BMR in shorebirds breeding at Alert (Vézina et al., 2012), although a large portion of this variation was attributed to migration recovery in recently arrived birds. Female birds have also been shown to have higher BMR during egg development (Chappell, Bech, & Buttemer, 1999; Nilsson & Råberg, 2001; Salvante, Vézina, & Williams, 2010; Vézina & Salvante, 2010; Vézina & Williams, 2002, 2005b). However, our data did not include measurements at that stage.

Our data on hematocrit, pectoralis muscle thickness and  $M_{\text{sum}}$  showed comparable patterns with regard to life-history stages and ambient temperature. Values for all three variables remained stable during pre-breeding and territorial stages, but declined with warming temperatures during breeding. In other words, warming temperature led to a loss of cold endurance as predicted under *Hypothesis 2*, but only when the birds were actively breeding, also providing support for *Hypothesis 3*. In fact, although sample size limitations prevented us from testing for within-stage effects (nest building, incubation and provisioning) one can see in Figs. 4.4-4.6 that the temperature related decline in these traits appears to occur during the highly active period of nestling provisioning. However, this stage was also coinciding with temperatures above 0°C in all years. Results further suggest that temperature may also act on muscle size (in 2017 Fig. 4.5) and  $M_{\text{sum}}$  (in 2019 Fig. 4.6) in some years independently from life-history stage. Although the overlap in time makes the

independent influence of temperature and breeding stages difficult to tease apart, several lines of evidences, together with previous studies, lead us to posit that variation in ambient temperature, rather than the direct effects of breeding, is the main driver of the observed decline in cold endurance in breeding snow buntings.

We observed a decline in pectoralis muscle thickness as temperature increased during breeding, with the lowest values recorded in birds provisioning nestlings. One could hypothesize that high locomotor activity required during foraging and provisioning could lead to muscle loss, as is often observed in other species during migration (e.g., Battley et al., 2000; Bauchinger et al., 2005), and to a correlated decline in  $M_{\text{sum}}$  since shivering heat production covary with muscle size in buntings (Dubois, Hallot, & Vézina, 2016; Le Pogam et al., 2020; Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021). However, migration related muscle loss results from unbalanced protein turnover due to a negative energy budget during flights (i.e., no or little replacement for degraded proteins as birds loose mass (Bauchinger & McWilliams, 2009, 2010a but see Gerson & Guglielmo, 2011). In our study, buntings did not show signs of negative energy balance once territorial defense had been initiated. In fact, both body mass and fat scores remained stable between territorial and breeding stages (Fig. 4.3). Furthermore, experimental studies have shown that exercise in birds leads an increase in pectoralis muscle mass and not a decrease as we observed here (Zhang et al., 2015, 2018). Additionally, seasonal declines in muscle mass and  $M_{\text{sum}}$  have been observed at the end of winter as temperatures warm up in non-migrant species coming out of cold wintering conditions (e.g., Petit et al., 2014). Such a pattern has also been observed in outdoor captive buntings exposed to summer temperatures on their wintering grounds (Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021). Indeed, although this study did not test for an influence of temperature on muscle thickness per se, Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., (2021) reported muscle sizes comparable to winter in March and April (corresponding to migration), and a relatively slow but constant decline through the rest of summer that was paralleled by a reduction in  $M_{\text{sum}}$ . Therefore, as these captive birds could not breed, we believe that changes in muscle size in breeding buntings, combined with the parallel changes in  $M_{\text{sum}}$ , are more

likely to result from rapidly improving thermal conditions than from a consequence of the bird's breeding activity.

We also found a negative relationship between hematocrit level and temperature, but only during breeding when thermal conditions had improved. Breeding related changes in avian hematocrit have been reported before (Fair, Whitaker, & Pearson, 2007; Krause, Németh, et al., 2016; Morton, 1994). For example, female birds typically experience hematocrit declines prior to egg-laying due to an increase in plasma volume estrogen inhibiting erythrocyte synthesis (Wagner et al., 2008; Williams et al., 2012), but this effect disappears during active nestling provisioning, the period matching the decline observed in this study (Morton, 1994; Williams et al., 2004; Krause et al., 2016a and see Fair et al., 2007 for a review). In males, however, hematocrit is positively related to testosterone (Buttemer & Astheimer, 2000) and testosterone does decline through breeding stages in buntings (Romero et al., 1998). Nevertheless, although hematocrit typically increases with exercise (Bairlein & Totzke, 1992; Morton, 1994; Piersma, Everaarts, & Jukema, 1996; Viscor, Marqués, & Palomeque, 1985), it has consistently been found to correlate negatively with ambient temperature in birds (Carey & Morton, 1976; DeGraw, Kern, & King, 1979; Fair, Whitaker, & Pearson, 2007; Rehder & Bird, 1983). This marker of oxygen carrying capacity is also directly and positively correlated with thermogenic capacity (Petit & Vézina, 2014a; Swanson, 1990b), including in snow buntings (Le Pogam et al., 2020; Le Pogam, O'Connor, Love, Petit, et al., 2021). It is therefore likely that the hematocrit reduction observed in breeding buntings results from increasingly favorable thermal conditions. As blood oxygen carrying capacity and cardiac function appears to support maximal shivering heat production (Petit, Lewden, & Vézina, 2014; Vézina et al., 2017) this effect probably underlies part of the observed temperature dependent changes in  $M_{\text{sum}}$ .

#### **4.6.3 Snow buntings may be paying double physiological costs in late spring years**

Our observations suggest that variation in oxygen carrying capacity, muscle size and  $M_{\text{sum}}$  may have more to do with warming summer temperatures than with breeding activities



in snow buntings. This supports results from several studies on avian cold endurance published since the 1990s showing the proximate influence of temperature on thermogenic capacity (Swanson & Olmstead, 1999; McKechnie & Swanson, 2010; Swanson, 2010 for reviews). In fact, combining data across years and breeding stages (Fig. 4.7), we observed that pectoralis muscle thickness started to decline once ambient temperatures warmed above 0°C. Thermogenic capacity followed closely and began to decline at temperatures above 2°C (Fig. 4.7). Therefore, our results for traits underlying cold endurance are consistent with the  $M_{\text{sum}}$  reaction norm reported in other birds (Petit & Vézina, 2014b; Swanson & Vézina, 2015) and support the hypothesis that snow buntings maintain thermogenic capacity after their arrival as long as temperatures remain below freezing, whether they are actively breeding or not (*Hypothesis 2*, Fig. 4.1).

This finding of a threshold temperature effect on the maintenance of thermogenic capacity is very meaningful because it suggests that snow buntings likely incur a double physiological cost in late spring years where breeding activities may begin at temperatures well below 0-2°C. The timing of our own data collection confirms this idea (see Fig. 4.2). While nestling provisioning clearly occurs at temperatures above freezing, other important stages such as egg production and incubation may begin (2016, 2019) or occur almost completely (2017, 2018) at temperatures requiring the maintenance of winter levels of thermogenic capacity and cold endurance. Other species, such as the Canada jay (*Perisoreus canadensis*) are known to initiate breeding at sub-zero temperatures (e.g., -10°C); however, these birds are of course larger than snow buntings and rely on considerable amounts of cached food to support their energy requirements (Whelan et al., 2016). Experimental studies with birds breeding in the cold have shown reduced rates of egg production, delayed laying, smaller clutches (Salvante, Walzem, & Williams, 2007) as well as reduced locomotor activity and potential energy reallocation among physiological systems when birds must combine cold acclimation and breeding (Salvante, Vézina, & Williams, 2010). The extent to which maintaining winter level cold endurance in late Arctic springs may or may not be restrictive in actively breeding snow buntings will therefore require more research.

**Acknowledgements**

We thank François Fournier from Environment and Climate Change Canada for his help with logistical support in the initial Alert phase of this project. We thank Jonathan Coudé for technical support and Alain Caron for statistical advices. We thank Chris McRae and Nathan Koutroulides for their help with logistics and the personnel from CFS Alert for their support during fieldwork. This research benefited from a generous donation from the Kenneth M. Molson Foundation. It was also supported by NSERC Discovery grants to F.V. and O.P.L., Canada Foundation for Innovation (CFI) awards to F.V. and O.P.L., Canada Research Chair funding to O.P.L., as well as logistical support and funding from the Department of National Defence to F.V and D.B. All bird handling at Alert (NU) was approved by the animal care committee of the Université du Québec à Rimouski (CPA-61-15-163 and CPA-71-17-194) and was conducted under scientific (SC-48) and banding (10889E) permits from Environment and Climate Change Canada.

# CONCLUSION GÉNÉRALE

---



## CONCLUSION GÉNÉRALE

### C.1 RETOUR SUR LES DÉCOUVERTES CLÉS

Dans le *chapitre 1*, nous avons étudié les ajustements phénotypiques des plectrophanes des neiges maintenus captifs en zone tempérée depuis la fin de l'été jusqu'à la fin de l'hiver. L'objectif était de déterminer si les patrons d'ajustements phénotypiques chez cette espèce associée au froid la majeure partie de sa vie se conformaient à celui des espèces résidentes aux mêmes latitudes. Nous avons observé une augmentation de la masse corporelle (+13%), de la masse lipidique (+246%), de l'épaisseur des muscles pectoraux (+8%), de l'hématocrite (+23%) et de la capacité thermogénique maximale ( $M_{\text{sum}}$ ) (+27%) chez les plectrophanes des neiges entre l'été et l'hiver. Ces résultats démontrent que la flexibilité des traits associés à l'acclimatation thermique chez les espèces nordiques adaptées au froid est comparable à celle des espèces résidentes dans les zones tempérées et n'est donc pas contrainte par la vie dans un froid relativement constant. Toutefois, le déclin de masse maigre (-12%) et la stabilité des coûts de maintenance physiologique (BMR) au cours de l'hiver suggèrent que les plectrophanes peuvent aussi minimiser les coûts énergétiques de la vie en milieux froids en réduisant la masse maigre métaboliquement active, ce qui est contraire aux espèces tempérées. Cette étude démontre donc que les mécanismes d'acclimatation thermique établis jusqu'à maintenant ne sont pas tous généralisables aux espèces arctiques. Elle constitue donc un point de référence pour de futures recherches comparatives.

Les résultats du *chapitre 1*, ont aussi révélé que le pic de capacité thermogénique ( $M_{\text{sum}}$ ) des plectrophanes des neiges était atteint durant les mois les plus froids de l'hiver à une température de  $-22^{\circ}\text{C}$  dans l'helox, ce qui équivaut à  $-94^{\circ}\text{C}$  dans l'air. Cette tolérance au froid est similaire à celle rapportée chez les bécasseaux maubèches qui sont des limicoles presque trois fois plus gros que les plectrophanes. Bien que le plectrophane soit considéré comme une espèce bien adaptée aux conditions arctiques depuis Scholander, Walters, et al., (1950), cette étude démontre pour la première fois l'extraordinaire tolérance au froid de ce

spécialiste de 30g. Elle constitue par le fait même un point de comparaison pour les études futures sur la tolérance au froid des passereaux.

Au *chapitre 2*, nous avons analysé les patrons d'ajustements phénotypiques de plectrophanes maintenus captifs à Rimouski au cours des périodes correspondant à la migration et la reproduction et nous les avons comparés au phénotype hivernal. L'objectif était de voir si et par quel mécanisme, les traits associés à l'acclimatation au froid hivernal pouvaient être transférés aux étapes ultérieures du cycle annuel comme la migration et l'arrivée/été. Les résultats ont mis en évidence que les traits liés à l'endurance au froid (c.-à-d., masse maigre, épaisseur des muscles pectoraux,  $M_{\text{sum}}$  et temps jusqu'au  $M_{\text{sum}}$ ), déjà élevés à la sortie de l'hiver (*chapitre 1*), restaient stables au cours de la période de migration (de mars à mai) de même qu'une partie de l'été. En revanche, similairement à la plupart des espèces migratrices, les plectrophanes des neiges accumulaient de la masse corporelle (+30%) et de la masse lipidique (+220%) en plus d'augmenter leurs coûts de maintenance physiologique (BMR) (+13%) en période de migration. Ces résultats démontrent que comparativement aux espèces migratrices non acclimatées au froid, les plectrophanes des neiges ne changent qu'une partie de leur phénotype en préparation à la migration.

Plus spécifiquement, cette étude confirme que les traits phénotypiques associés à l'endurance au froid peuvent être transposés au phénotype migratoire indépendamment des autres paramètres tels que la masse lipidique qui requiert d'importantes transformations corporelles qui mènent à une élévation des coûts de maintenance. Cette étude suggère donc que les traits phénotypiques associés à l'acclimatation au froid hivernal pourraient fournir une performance aérobique suffisante pour migrer dans les environnements froids. Il est probable que d'autres espèces de passereaux migrants qui hivernent en conditions froides comme le sizerin blanchâtre (*Acanthis hornemanni*), le plectrophane lapon (*Calcarius lapponicus*) ou encore l'alouette hausse-col (*Eremophila alpestris*) puissent montrer des réponses similaires. Cette étude présente donc un nouveau patron d'ajustements phénotypiques associé à la migration pour les espèces spécialistes du froid et vient nuancer

ceux déjà largement acceptés et véhiculés dans la littérature, basés sur des migrateurs vivant en conditions moins extrêmes.

Les résultats du *chapitre 2* démontrent par ailleurs la capacité étonnante des plectrophanes des neiges à maintenir un niveau quasi hivernal d'endurance au froid jusqu'à tard dans l'été, et ce même si les températures ambiantes sont bien plus élevées que celle de l'Arctique. Cette observation suggère que l'espèce pourrait être équipée pour faire face aux conditions climatiques imprévisibles en migration printanière ainsi que sur les sites de reproduction arctiques. Ce résultat suggère également que le phénotype associé à l'acclimatation au froid peut être concomitant avec ceux de la migration et de la reproduction.

Dans la continuité des deux premiers chapitres, nous avons comparé au *chapitre 3* le phénotype des plectrophanes capturés en milieu naturel en hiver à Rimouski et en pré-reproduction à Alert afin de déterminer si la performance métabolique et l'endurance au froid étaient maintenues à un niveau hivernal durant la migration et la pré-reproduction. Les résultats montrent que les valeurs de masse corporelle, d'indice lipidique et de  $M_{\text{sum}}$  étaient comparables entre l'hiver et la pré-reproduction. L'épaisseur des muscles pectoraux et l'hématocrite, qui sont tous deux des paramètres sous-jacents à l'endurance au froid, étaient en revanche plus bas en pré-reproduction qu'en hiver. Ces résultats suggèrent que bien que la dégradation des tissus au cours de la migration pourrait affecter la masse des muscles, elle semble peu impacter l'endurance au froid et les réserves d'énergie chez cette espèce spécialiste du froid. Ces résultats, en accord avec ceux rapportés au *chapitre 2*, constituent un appui solide à la thèse selon laquelle les espèces migratrices spécialistes du froid pourraient maintenir leur endurance au froid à un niveau hivernal depuis l'hiver jusqu'à la pré-reproduction. Les résultats du *chapitre 3* associés à ceux du *chapitre 1* confirment aussi que chez les plectrophanes de neiges, l'endurance au froid peut se maintenir indépendamment de la taille des muscles pectoraux (Barceló, Love, & Vézina, 2017; Milbergue, Blier, & Vézina, 2018; Stager, Swanson, & Cheviron, 2015).

Les résultats du *chapitre 3* révèlent par ailleurs des valeurs de BMR plus élevées en pré-reproduction qu'en hiver. À notre connaissance, ce résultat constitue la première

observation d'un coût de maintenance élevé à des latitudes arctiques chez une espèce de passereau. Comme le BMR augmentait entre l'hiver et la pré-reproduction sans que la masse corporelle ne change en parallèle, nos données suggèrent que des coûts de maintenance plus élevés dans l'Arctique sont le résultat d'une activité plus importante à l'échelle des tissus métaboliquement actifs (Swanson, McKechnie, & Vézina, 2017). D'autre part, comme nous avons également observé des coûts de maintenance élevés en période migratoire et estivale au *chapitre 2* alors que les oiseaux étaient exposés à des températures élevées, il se pourrait qu'une partie de la variation sous-jacente au BMR soit déterminée par des cycles circannuels endogènes (Karagicheva et al., 2016; Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011).

Dans l'étude présentée au *chapitre 4*, nous avons comparé le phénotype de plectrophanes durant 3 stades d'histoire de vie à savoir, la pré-reproduction, la défense de territoire et la reproduction. L'objectif était de déterminer si la performance métabolique et les paramètres associés se maintenaient à un niveau hivernal durant toute la saison de reproduction, comme le laissait présager le *chapitre 2*, ou si la performance déclinait en réponse aux conditions thermiques et/ou aux stades d'histoires de vie. Nos résultats ont mis en évidence un déclin de la masse corporelle et des réserves lipidiques entre la pré-reproduction et la défense des territoires puis une stabilisation de ces paramètres indépendamment des conditions thermiques. Deux interprétations sont possibles pour ces observations. Les plectrophanes pourraient être incapables de maintenir leur masse corporelle et leurs réserves lipidiques à un niveau hivernal en raison des activités liées à la reproduction (c.-à-d., défense de territoires, parade nuptiale, nourrissage des oisillons) qui seraient trop coûteuses énergétiquement. Alternativement, les plectrophanes pourraient réduire de manière adaptative leurs réserves d'énergie et par conséquent leur masse corporelle dans le but de diminuer les coûts du vol durant une période déjà coûteuse énergétiquement. Néanmoins, les résultats observés en milieu naturel (*chapitre 4*) et en captivité (*chapitre 2*) diffèrent puisqu'en captivité, la masse corporelle et les réserves d'énergie se maintenaient jusqu'en juin. D'autres études qui rapportent également un maintien de la masse corporelle et lipidique en captivité (Eyster, 1954; Gwinner & Czeschlik, 1978; Lewis, 1975; Schwabl et al., 1989) suggèrent plusieurs hypothèses basées sur un effet

de captivité pour expliquer ces constats (Gwinner & Czeschlik, 1978; Schwabl et al., 1989). Cependant, comme pour d'autres migrateurs qui se reproduisent à ces latitudes, nous émettons l'hypothèse que les plectrophanes pourraient également être pré-programmés (Karagicheva et al., 2016; Piersma, 2002; Piersma, Cadée, & Daan, 1995; Ramenofsky & Wingfield, 2006; Vézina, Dekinga, & Piersma, 2011), via un cycle circannuel endogène pour maintenir un taux d'alimentation élevé en période de reproduction afin de subvenir aux demandes énergétiques élevées associées à cette période. Chez les oiseaux en milieu naturel, ces réserves d'énergie seraient consommées pour soutenir les activités de reproduction, tandis qu'en captivité, ces réserves d'énergie seraient maintenues à un niveau hivernal dû au fait que les oiseaux ne se reproduisent pas et ont donc moins de dépenses énergétiques.

Si la taille des réserves et la masse varient avec les stades reproducteurs chez les plectrophanes, les résultats du *chapitre 4* montrent aussi que les patrons d'endurance au froid, d'hématocrite et d'épaisseur des muscles pectoraux, quant à eux, se maintiennent stables et élevés tant que la température reste essentiellement sous le point de congélation. Plus particulièrement, le  $M_{\text{sum}}$  et l'épaisseur des muscles pectoraux déclinaient à partir d'une température seuil comprise entre 0 et 2°C qui coïncidait par le fait même avec la période d'approvisionnement des oisillons. Basées sur les résultats du *chapitre 2* et ceux d'études antérieures, les évidences suggèrent que le déclin de ces trois paramètres pourrait davantage être lié à l'augmentation des températures estivales qu'aux activités de reproduction.

L'étude présentée au *Chapitre 4* suggère donc que les plectrophanes des neiges doivent maintenir une capacité thermogénique élevée après leur arrivée sur les sites de reproduction tant que les températures demeurent inférieures au point de congélation, qu'ils se reproduisent activement ou non. Dans ce contexte, nos recherches suggèrent que les oiseaux subissent probablement un double coût physiologique à la fin du printemps, lorsque les activités de reproduction (c.-à-d., production et incubation des œufs) commencent alors que les températures sont encore inférieures à 0-2°C. En faisant la première démonstration de cet effet additif potentiel, cette étude pointe vers des mécanismes encore à étudier qui pourraient permettre de comprendre les variations du succès reproducteur en fonction de



l'environnement thermique. Cette étude donne donc un cadre théorique important pour les écologistes qui étudient les variations annuelles de populations arctiques dans le cadre des changements climatiques.

## **C.2 ORIGINALITÉ ET PERTINENCE DE L'ÉTUDE**

De manière générale, cette étude permet une compréhension intégrée de l'interaction entre les contraintes environnementales et physiologiques qui façonnent la flexibilité phénotypique des organismes. C'est la première fois qu'une étude avec un tel niveau de complexité technique est réalisée à des latitudes si élevées. Alert étant seulement à 817 km du pôle Nord, cette étude rapporte en effet les mesures les plus septentrionales de capacité thermogénique jamais mesurées chez les oiseaux.

### **C.2.1 Choix du modèle d'étude**

Jusqu'à maintenant, la majorité des études qui se sont intéressées aux patrons d'ajustements phénotypiques associés à l'hiver, la migration et la reproduction portaient sur des espèces vivant dans des milieux de vie semblables (p. ex., zones tempérées ou tropicales). Or les espèces « atypiques » en raison de leur distribution ou de leur milieu de vie sont encore très peu étudiées. En ce sens, l'utilisation du plectropane des neiges comme modèle d'étude est pertinente, car cette espèce (1) passe la majeure partie de l'année en conditions hivernales (2) migre tôt au printemps dans des conditions hivernales (3) arrive tôt sur les aires de reproduction Arctique et (4) est confrontée à des températures froides une grande partie de la saison de reproduction. En raison de ces caractéristiques, le plectropane a permis (1) de mettre en avant un nouveau patron d'ajustements phénotypiques, différent de ceux bien déjà bien établis et acceptés par la communauté scientifique et (2) de confirmer que certains paramètres physiologiques peuvent être maintenus d'un stade d'histoire de vie à l'autre selon les besoins et indépendamment d'autres traits physiologiques (c.-à-d., des effets reportés, Harrison et al. 2011 ou chevauchements, Wingfield et al. 2004). Néanmoins, d'autres études sur des espèces de passereaux nordiques sont nécessaires afin de déterminer si les découvertes de cette étude sont des traits spécifiques aux plectropanes ou bien s'ils sont

généralisables à d'autres espèces de passereaux se reproduisant dans l'Arctique (p. ex., plectrophane lapon, sizerin blanchâtre, ou encore l'alouette hausse-col).

### **C.2.2 Mesures répétées à fine échelle**

Une des principales forces de cette étude est qu'elle combine des recherches à la fois sur des individus maintenus captifs en zone tempérée et sur des individus capturés en milieu naturel sur leur aire d'hivernage (Rimouski) et à l'extrême nord de leur aire de reproduction (Alert, 82°N). Ces trois contextes de recherche nous ont permis de dresser un portrait complet des ajustements phénotypiques tant à l'échelle individuelle que populationnelle d'une espèce migratrice confrontée à des environnements froids la majeure partie de l'année et de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents.

Grâce aux mesures sur les oiseaux maintenus captifs, nous avons pu effectuer un suivi-individuel aux niveaux intra- et inter- annuel d'une population de plectrophanes des neiges durant 5 années. En plus de nous donner une puissance d'analyse importante, le suivi intra-individuel nous a permis de détailler à une échelle temporelle fine (mesures réalisées jusqu'à deux fois par mois en hiver et jusqu'à une fois par semaine au printemps), les patrons d'ajustements phénotypiques de cette espèce spécialiste du froid, et ce, au sein de l'hiver (*chapitre 1*), en période de préparation à la migration et pendant les périodes correspondant à la migration et la reproduction (*chapitre 2*). Cette approche nous a également permis d'analyser les causes, les mécanismes et les conséquences des ajustements phénotypiques. Elle a notamment permis de démontrer que le phénotype hivernal pouvait se maintenir jusqu'à tard dans l'été (*chapitres 1 et 2*). Cette approche se distingue de la plupart des études sur l'acclimatation thermique qui jusqu'à maintenant, se sont essentiellement intéressées aux ajustements phénotypiques des oiseaux à l'échelle des saisons (été versus hiver).

### **C.2.3 Expérimentation en conditions semi-naturelles**

En étant maintenus en zone tempérée toute l'année, les plectrophanes des neiges captifs étaient exposés durant l'été à des températures ambiantes plus élevées que celles auxquelles ils font naturellement face dans l'Arctique. C'est cette approche qui nous a permis

de découvrir que les plectrophanes des neiges pouvaient maintenir une performance élevée jusqu'à tard dans l'été, possiblement via un cycle endogène (*chapitre 2*). Seule une approche expérimentale permet de faire ce type de découvertes.

D'autre part, même si l'effet d'année n'a pas été étudié de manière statistique, les *chapitres 1* et *2* révèlent des patrons d'ajustements relativement similaires entre les années. En faisant le parallèle avec les conditions environnementales moyennes sur 5 ans (i.e., photopériode, température ambiante), nous avons pu mettre en avant certaines évidences comme le fait que la masse corporelle et lipidique atteignaient un pic pendant les jours les plus courts tandis que la capacité thermogénique et l'endurance au froid atteignaient leur maximum pendant les mois les plus froids de l'hiver (*chapitre 1*).

#### **C.2.4 Plusieurs niveaux d'organisation**

Une autre des forces de cette étude réside dans le fait qu'elle intègre plusieurs niveaux d'organisation. Nous avons en effet combiné à la fois des mesures de composition corporelle, de capacité de transport de l'oxygène dans le sang et de performance métabolique dans chacun des chapitres. La combinaison de ces paramètres nous a permis, en plus de dresser un portrait complet des ajustements phénotypiques annuels chez les plectrophanes des neiges, d'investiguer comment les paramètres de composition corporelle variaient entre eux et leur relation avec la performance métabolique. Plus particulièrement, cela nous a permis de faire la lumière sur certains mécanismes sous-jacents aux ajustements phénotypiques chez cette espèce.

### **C.3 LIMITES DE L'ÉTUDE**

#### **C.3.1 Limites dans la récolte de données des oiseaux captifs**

Dans les *chapitres 1* et *2*, nous avons analysé et présenté les patrons d'ajustements phénotypiques moyens des plectrophanes des neiges captifs en combinant 5 années de données (2013 à 2018). En parallèle, les patrons de variations inter-annuelles pour chacun des paramètres étaient présentés de manière visuelle. L'effet d'année n'a cependant pas pu être analysé de manière statistique, car bien que les patrons annuels étaient relativement

complets, chaque séquence de mesures (i.e., Jan-1, Jan-2, Féb-1, féb-2, etc.) que nous avons identifiée comme la variable « mois » ne revenait pas nécessairement d'une année sur l'autre pour des raisons logistiques. Par conséquent, l'interaction « mois x année » qui aurait été la variable nécessaire pour interpréter les différences annuelles dans les changements phénotypiques en lien par exemple avec les variations de conditions météorologiques n'a pas pu être intégrée dans nos modèles. Analyser l'effet d'année aurait pu nous permettre de découvrir si une année particulièrement froide ou avec une forte accumulation de neige aurait eu une influence sur les patrons d'ajustements phénotypiques des plectrophanes des neiges.

### **C.3.2 Limites des recherches en conditions naturelles**

De manière générale, les recherches menées dans l'Arctique représentent un défi important, car elles sont associées à des contraintes logistiques importantes.

Au *chapitre 4*, nous avons étudié les variations de composition corporelle et les performances métaboliques des plectrophanes au cours de 3 stades d'histoires de vie, à savoir la pré-reproduction, l'établissement et la défense des territoires et la reproduction. Cependant, entre les années et au cours d'une même année, la taille des échantillons dans chacun de ces stades était déséquilibrée, car pour des raisons logistiques, l'effort de capture n'a pas pu être maintenu constant. De plus, la durée de chacun des stades d'histoire de vie et le nombre d'individus présents sur le site d'étude différaient entre les années. Par conséquent, nous avons dû combiner l'ensemble des données récoltées au cours des 4 années d'études (2016 à 2019) pour d'obtenir des patrons complets de variations phénotypiques.

D'autre part, nous observons aussi au *chapitre 4* que le seuil de température à partir duquel la capacité thermogénique et l'épaisseur des muscles commencent à décliner semble coïncider avec la période d'approvisionnement des oisillons. Il aurait été pertinent d'inclure les stades d'histoire de vie sous-jacents à celui de la reproduction (i.e., confection du nid, ponte, incubation, approvisionnement des oisillons) dans les analyses statistiques afin d'interpréter plus finement leurs effets potentiels sur les variations de performance métabolique et les traits associés. Cependant, au cours des 4 années de terrain (2016 à 2019),

notre capacité à trouver des nids accessibles et à les suivre au cours des stades de reproduction s'est avérée difficile, c'est pourquoi la taille des échantillons dans chacun de ces sous-stades était trop faible pour être inclus dans les analyses statistiques.

Par ailleurs, au sein d'une même année, il n'a pas été possible de faire des suivis à l'échelle de l'individu depuis l'arrivée jusqu'à la reproduction. En fait, dans une même année, même si un nombre important d'oiseaux peut être capturé en pré-reproduction, un nombre très limité d'individus sont ensuite recapturés lors des stades subséquents. Entre 2016 et 2019, un seul oiseau a été capturé à la fois en pré-reproduction et en défense de territoires sur une possibilité de 344 individus. Réaliser des suivis intra-individuels au sein d'une même année aurait permis d'investiguer si les oiseaux les plus endurants au froid en pré-reproduction étaient les mêmes qu'en période de reproduction. À plus long terme, nous aurions pu voir si cela avait des conséquences sur le succès reproducteur.

Enfin, contrairement à d'autres sites de l'Arctique, où les chercheurs recapturent des individus d'une année sur l'autre (Macdonald et al., 2012; Snell et al., 2018), à Alert entre 2016 et 2019, seulement 2 oiseaux ont été recapturés entre deux années. Dans ce contexte, il n'a pas été possible d'effectuer des suivis intra-individuels à l'échelle inter-annuelle. Or, un suivi intra-individuel entre les années aurait permis d'investiguer si les individus les plus endurants au froid le reste d'une année sur l'autre. À plus long terme, nous aurions pu voir si cela avait des conséquences sur la survie des individus. Par ailleurs, étant donné qu'il est difficile de recapter des oiseaux entre les années, notre tentative de déploiement de géolocaliseurs sur les plectrophanes des neiges a été infructueuse, puisque ces petits dispositifs nécessitent d'être récupérés d'une année sur l'autre afin d'obtenir les données (Macdonald et al., 2012). Nous devons donc attendre la miniaturisation des émetteurs satellitaires pour connaître les trajectoires de migration et les aires d'hivernage des plectrophanes se reproduisant à Alert. En ce sens la technologie ICARUS actuellement en développement est prometteuse (<https://www.icarus.mpg.de/en>, Wikelski et al. 2007).

### C.3.3 Limites des paramètres mesurés

L'appareil d'analyse de la composition corporelle par résonance magnétique quantitative (QMR) EchoMRI permet de mesurer la masse lipidique, la masse maigre humide et le contenu en eau des petits organismes (10-200g) de manière non invasive (i.e. pas d'anesthésie ni d'euthanasie) en très peu de temps (~12 minutes) et avec des résultats très précis ( $\pm 0.001\text{g}$ ) (Guglielmo et al., 2011). Cette technique permettant de détecter de très faibles variations de masse a été très utile pour les suivis intra-individuels des *chapitres 1* et *2*. Néanmoins, une des limites majeures de l'appareil est qu'il est difficilement transportable sur le terrain. Ainsi, pour des raisons logistiques, il n'a pas été possible d'apporter cet instrument à Alert entre 2016 et 2019. Par conséquent, nous n'avons pas pu obtenir des données de masse lipidique et maigre sur les individus en période de reproduction à Alert. Comme alternative, nous avons utilisé dans les *chapitres 3* et *4*, les indices visuels lipidiques (de 0 à 6) pour estimer les réserves de gras des oiseaux durant la saison de reproduction.

Par ailleurs, dans les *chapitres 1* et *2*, nous nous sommes servis des valeurs de masse maigre obtenues avec le QMR pour corriger les coûts de maintenance physiologiques des organismes (i.e., BMR). Étant donné que le BMR reflète essentiellement la taille et/ou le niveau d'activité métabolique des tissus et organes d'un animal, l'utilisation de la masse maigre est plus appropriée que l'utilisation de la masse corporelle totale qui comprend la masse lipidique. Cependant, comme nous n'avons pas de données de masse maigre pour les oiseaux capturés à Alert, dans les *chapitres 3* et *4*, nous avons été contraints de considérer la masse corporelle totale comme covariable dans les analyses sur le BMR.

Une autre limite des données de masse maigre obtenues par QMR est qu'elles n'informent pas sur comment et quels organes ou tissus varient à l'intérieur de l'animal. Ainsi, la masse maigre d'un individu peut rester stable entre deux mesures alors que la masse de tissus ou organe peut varier dans des directions opposées. Par conséquent, dans le *chapitre 1*, nous ne pouvons pas expliquer quelle est la cause de l'augmentation de masse maigre observée à l'automne. Dans le même ordre d'idée, dans le *chapitre 2*, nous ne sommes pas en mesure d'expliquer quelles composantes de la masse maigre déclinent entre juillet et août.

Pour obtenir ces informations, des données de dissections sont nécessaires, ce qui n'est pas compatible avec des études longitudinales.

### **C.3.4 Limites de l'interprétation**

Dans le *chapitre 3*, nous avons comparé le phénotype de plectrophanes capturés au pic de l'hiver à Rimouski (aire d'hivernage) avec celui de plectrophanes capturés en pré-reproduction à Alert (aire de reproduction). Bien que cette comparaison reste valide pour la question à l'étude, il est probable que nous comparions des oiseaux de populations différentes, car actuellement, nous ne connaissons pas le site d'hivernage des oiseaux se reproduisant à Alert. Sachant que les oiseaux hivernant à Rimouski se reproduisent au Groenland (Macdonald et al., 2012), l'idéal aurait été de comparer le phénotype des oiseaux à ces deux sites. Des analyses génétiques de plusieurs populations de plectrophanes des neiges en provenance du monde entier (dont Alert) sont en cours (K. Patel et al., en préparation) afin de déterminer comment elles sont liées les unes aux autres.

## **C.4 PERSPECTIVES DE RECHERCHE**

### **C.4.1 Étude à fine échelle de la composition corporelle**

Dans les *chapitres 1* et *2*, les mesures de masse maigre et lipidique nous ont permis d'établir les patrons de variations de composition corporelle des plectrophanes de neiges. Par exemple, dans le *chapitre 1*, nous avons observé que la masse maigre des plectrophanes déclinait rapidement entre août et octobre avant de se stabiliser puis d'augmenter fin décembre pour atteindre un plateau pour le reste de l'hiver. Dans le *chapitre 2*, nous avons observé que la masse maigre se maintenait relativement stable au cours de l'été avant d'augmenter considérablement entre juin et juillet. Nous avons interprété ces variations de masse maigre comme le résultat de changements de taille des organes. Sur la base d'études antérieures, nous savons par exemple que l'acclimatation au froid et la préparation à la migration peuvent être associée à une augmentation de la masse des muscles pectoraux, des organes cardiopulmonaires (c.-à-d., cœur et poumons) et des organes nutritionnels (c.-à-d., digestifs et excréteurs), ce qui permet respectivement d'augmenter la production de chaleur

par frissonnement, la puissance musculaire pour le vol et d'accroître les réserves d'énergie (Chappell, Bech, & Buttemer, 1999; Klaassen, Kvist, & Lindström, 2000; Petit, Clavijo-Baquet, & Vézina, 2017; Petit & Vézina, 2014a; Piersma, 2011; Swanson, Zhang, & King, 2013). Néanmoins, nos données de composition corporelle ne nous permettaient pas d'étudier les changements dans ce détail.

Ainsi, une étude détaillant les patrons de variation annuels de composition corporelle à l'échelle des organes permettrait une meilleure interprétation des variations de masse maigre et lipidique observées chez les plectrophanes des neiges jusqu'à maintenant (*chapitres 1 et 2*). C'est pourquoi, en parallèle à mon doctorat, j'ai co-supervisé avec mon directeur un projet de dissections mené par des étudiantes au baccalauréat. Ce projet consiste à prélever les organes de plectrophanes en bonne santé et morts naturellement ou accidentellement en volière ou sacrifiés lors de projets parallèles. Aucun oiseau n'a donc été sacrifié spécifiquement pour ce projet. Actuellement, 80 plectrophanes des neiges ont été disséqués. L'objectif est d'avoir suffisamment de données réparties sur l'année pour mettre en parallèle les variations de masse des organes avec les données de composition corporelle mesurées en QMR.

#### **C.4.2 Étude sur les contraintes hivernales liées au sexes**

Le plectropane des neiges fait partie des espèces d'Amérique du Nord qui effectuent une migration différentielle durant l'hiver (Banks et al., 1991; Rae & Marquiss, 1989). D'après Macdonald et al. (2015), la taille structurelle des individus est plus grande là où les conditions hivernales moyennes (déterminée par la température, les précipitations de neige et l'épaisseur de la couverture de neige) rencontrées par ces populations sont plus intenses. Par conséquent, les mâles, qui ont généralement une plus grande taille structurelle que les femelles (Banks et al., 1989; Montgomerie & Lyon, 2020), hivernent à des latitudes plus élevées et plus à l'Est que les femelles (Macdonald et al., 2016).

L'hypothèse émise est que, mâles et femelles auraient tous deux avantage à hiverner le plus au Nord possible afin d'arriver plus tôt sur les aires de reproduction (Cristol et al., 1999; Ketterson et Nolan, 1976; Myers, 1981), mais cette stratégie pourrait être limitée par

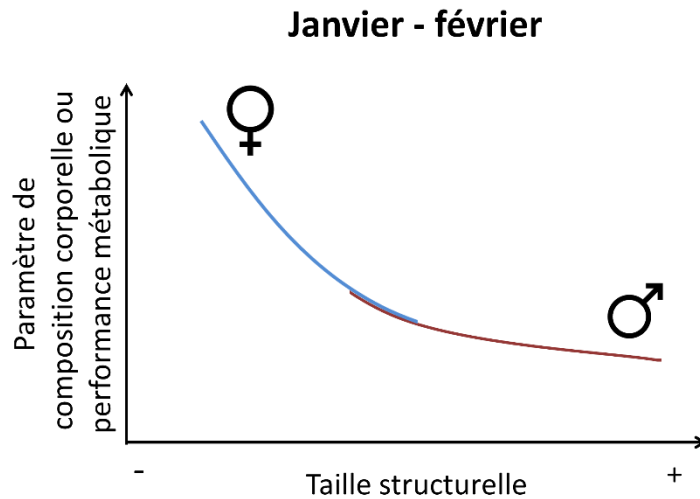


les coûts associés à la thermorégulation. En effet, en raison de leur ratio surface/volume élevé, les individus de petite taille (comme les femelles) devraient payer un coût énergétique plus important que les individus de plus grande taille (comme les mâles) pour survivre aux contraintes des aires d'hivernage situées plus au Nord. Par conséquent, en sélectionnant des sites d'hivernage qui minimisent les coûts de thermorégulation, les individus de petite taille seraient en mesure de réduire leurs besoins énergétiques au bénéfice d'autres processus vitaux (Webb & Rogers, 1988).

L'objectif d'une prochaine étude serait donc de tester cette hypothèse en déterminant si les coûts associés à un hivernage dans des environnements plus nordiques et donc plus froids sont plus élevés pour les individus de petite taille (comme les femelles) comparativement aux individus de plus grande taille (comme les mâles). Cette étude serait complémentaire au *chapitre 1* qui renseigne sur les ajustements phénotypiques hivernaux des plectrophanes des neiges mâles capturés aux alentours de Rimouski (leur aire d'hivernage naturel).

Comme j'avais initialement prévu d'inclure ce projet dans ma thèse, j'ai capturé des femelles plectrophanes sur une aire d'hivernage plus au Sud (Guelph 43°N) et les ai ramenées à Rimouski. Entre novembre et février, de 2015 à 2018, j'ai récolté au minimum une fois par mois, les mêmes données de composition corporelle (masse corporelle, lipidique et maigre), d'hématocrite et de performance métabolique ( $M_{\text{sum}}$  et BMR) que celles prises sur les mâles dans le *chapitre 1*. Les données doivent maintenant être analysées.

La figure C.1 illustre les résultats des variations de composition corporelle ou de performance métabolique attendus en fonction de la taille structurelle des mâles et des femelles. Pendant les mois avec les jours les plus courts (décembre) et les jours les plus froids de l'hiver (janvier-février), je m'attends à ce que pour compenser l'effet de leur taille structurelle, les individus de petite taille (comme les femelles) augmentent la valeur de leurs traits phénotypiques de manière disproportionnée par rapport aux individus de plus grande taille (comme les mâles).



**Figure C.1** Résultats attendus des variations de composition corporelle et de performance métabolique en fonction de la taille structurelle des mâles et des femelles au cours des mois de janvier et février (mois les plus froids de l'hiver)

#### C.4.3 Étude de la stratégie d'engraissement pendant la migration

Dans le *chapitre 2* nous avons observé qu'en avril, lorsque les réserves de gras des plectrophanes des neiges atteignent leur maximum, ces réserves représentent 64% de la masse maigre humide. Ce pourcentage est plus important que celui observé chez les passereaux migrants dans des environnements hospitaliers (20-30% masse maigre humide, Alerstam & Lindström, 1990; Blem, 1980; Lindström & Piersma, 1993 révisé par Guglielmo, 2018) mais concorde avec les 50-70% de masse maigre humide rapportée chez les migrants devant traverser une barrière géographique (Blem 1980; Lindström and Piersma 1993; Newton 2008, révisé par Guglielmo, 2018). Ainsi même si les plectrophanes des neiges de l'étude présentée dans le *chapitre 2* ne peuvent pas migrer, ils montrent des changements phénotypiques qui coïncident avec ceux observés chez les passereaux migrants qui effectuent de longs vols sans escale. En fait, en milieu naturel la population de l'Est canadien, dont sont issus les plectrophanes captifs, suit le fleuve Saint-Laurent au cours de sa migration printanière et traverse la mer du Labrador pour atteindre les aires de reproduction situées au

Groenland (Macdonald et al., 2012). Cependant, la stratégie migratoire employée par les plectrophanes des neiges hivernant à Rimouski n'est pas connue. Par conséquent, nous ne savons pas si les plectrophanes accumulent graduellement des réserves d'énergie lors des escales successives pendant la migration comme le font la fauvette des jardins et le gobe-mouche noir (Schaub & Jenni, 2000a, 2000b) présentés en introduction et comme le suggèrent nos données de captivité, ou bien s'ils augmentent leurs réserves d'énergie juste avant de traverser la barrière géographique. Ces données préliminaires donnent matière à investiguer davantage sur la stratégie d'engraissement employée par plectrophane des neiges au printemps. En comparant les données de masse corporelle et d'indice lipidique des plectrophanes captifs avec celles des oiseaux capturés en milieu naturel à Terre-Neuve (données obtenues du réseau de bagage canadien du plectrophane des neiges – Canadian Snow Bunting Banding Network (CSBN)) il semblerait que les oiseaux s'engraissent à la fois pendant le vol et juste avant la barrière géographique (avant de traverser la mer du Labrador en direction du Groenland).

#### **C.4.4 Étude de l'influence de la photopériode**

Les résultats observés chez les plectrophanes captifs (*chapitre 2*) et en milieu naturel (*chapitre 4*) diffèrent puisque les plectrophanes captifs maintiennent une masse corporelle et lipidique à des valeurs élevées jusqu'à mi-juin tandis qu'en milieu naturel, ces deux paramètres baissent rapidement dès la défense de territoires. Aussi, à Rimouski, les oiseaux ne migrent pas, ne se reproduisent pas et sont confrontés à des températures qui augmentent graduellement, tandis que les oiseaux capturés à Alert, migrent, se reproduisent et sont confrontés à des températures relativement basses, du moins jusqu'à un stade relativement avancé de reproduction. En raison de ces contextes différents, dans le *chapitre 4*, nous avons émis l'hypothèse que les plectrophanes pouvaient être pré-programmés, via un cycle endogène pour maintenir des taux d'alimentation élevés en période de reproduction afin de subvenir aux demandes énergétiques élevées associées à cette période. Chez les oiseaux en milieu naturel, ces réserves d'énergie seraient consommées pour soutenir les activités de reproduction, tandis qu'en captivité, ces réserves d'énergie seraient maintenues à un niveau

hivernal du fait que les oiseaux ne se reproduisent pas et ont donc moins de dépenses énergétiques. Cependant, cette hypothèse n'explique pas pourquoi la masse corporelle et lipidique décline à la mi-juin chez les oiseaux captifs. Or, nous avons observé que la période de déclin correspond au solstice d'été, soit la période où les jours commencent à raccourcir. Ainsi, nous pouvons émettre l'hypothèse que tant que la photopériode ne change pas vers des jours de moins en moins longs, les plectrophanes pourraient maintenir un phénotype migratoire. Ce phénomène est possible puisqu'en nature ils sont exposés à 24h de lumière jusqu'à la fin de la reproduction. Pour tester cette hypothèse, nous pourrions exposer de manière expérimentale des plectrophanes à différentes photopériodes entre le printemps et l'été afin de déterminer l'effet de la durée du jour sur les paramètres impliqués dans l'acclimatation au froid (masse corporelle et lipidique mais aussi performance métabolique).

#### **C.4.5 Étude plus détaillée de la période de reproduction**

Dans le *chapitre 4*, en combinant plusieurs années de données, nous avons mis en évidence que le  $M_{\text{sum}}$  et l'épaisseur des muscles pectoraux déclinaient chaque année à partir d'une température seuil comprise entre 0 et 2°C. Par conséquent, nous avons démontré que l'endurance au froid hivernal pouvait être compatible avec la reproduction et possiblement générer un double coût physiologique pour les plectrophanes des neiges lorsque les activités de reproduction commencent (p. ex., production et incubation des œufs) et que les températures restent inférieures à 0-2°C. Nous avons également observé à travers les résultats du *chapitre 4*, que le seuil de température à partir duquel le  $M_{\text{sum}}$  et l'épaisseur des muscles déclinaient semblait coïncider avec la période d'approvisionnement des oisillons. Cependant, il est difficile de séparer clairement l'influence du stade reproducteur de celui de la température avec nos données actuelles. Ainsi, bien que les évidences suggèrent que le déclin des paramètres pourrait davantage être lié à l'augmentation des températures estivales qu'aux activités de reproduction, davantage de données seraient nécessaires pour confirmer cette hypothèse. Ainsi, dans le futur, il serait pertinent de tenter d'obtenir (1) davantage de données pendant les stades successifs de la reproduction comme les phases de production des œufs, d'incubation et d'approvisionnement des oisillons. Maintenir la collecte de données sur

plusieurs années permettrait également (2) de capturer plus d'événements de printemps tardifs (p. ex., tempêtes de neige) qui peuvent possiblement perdurer jusqu'à l'approvisionnement des oisillons. Ces données complémentaires permettraient de déterminer plus précisément si le maintien de l'endurance au froid est réellement possible pendant l'approvisionnement des poussins et s'il peut être ou non restrictif pour les plectrophanes.

# ANNEXES

**Table A.1** Measurement sequence and sample size across years for metabolic performance (summit metabolic rate [ $M_{\text{sum}}$ ] and basal metabolic rate [BMR]), hematocrit (HCT), pectoralis muscle thickness, and body composition (total, fat, and lean body mass)

Measurement sequence (month)	2013–2014			2014–2015			2015–2016			2016–2017			2017–2018		
	Meta perf	HCT and muscle	Body comp	Meta perf	HCT and muscle	Body comp	Meta perf	HCT and muscle	Body comp	Meta perf	HCT and muscle	Body comp	Meta perf	HCT and muscle	Body comp
Aug.						27	(17) 19	19	19		(24) 32	32			24
Sept.-1								(17) 19	19						
Sept.-2							16	(16) 17	17	(0) 26	31	31			23
Oct.-1				(25) 23	(25) 22	25		16	16						22
Oct.-2					(25) 20	24	(13) 14	14	14						
Nov.-1	16	19	19	22	(21) 22	22		13	13						19
Nov.-2					(18) 22	22	13	13	13						19
Dec.-1	16	17	17	(21) 24	25	25		13	13						18
Dec.-2					22	22	13	13	13						18
Jan.-1				22	23	23		12	12						18
Jan.-2	(20) 21	23	23		22	22	(9) 8	(14) 19	19			19			25
Feb.-1					24	24	8	20	20	(22) 20	23	23			
Feb.-2	(13) 15	(14) 15	15	(29) 25	25	25									
Mar.	(0) 16	16	16		(24) 25	25	(19) 18	19	19						

Note. Numbers in parentheses in the “Meta perf” columns are sample sizes for  $M_{\text{sum}}$  when different from samples sizes for BMR. Numbers in parentheses in the “HCT and muscle” columns are sample sizes for HCT when different from sample sizes for muscle thickness. Fat and lean measurements by quantitative magnetic resonance began in November 2014. As we were interested in tracking intraindividual phenotypic variation, we repeatedly measured each bird from the end of August to early March over 5 yr (metabolic performance:  $4.9 \pm 0.6$  times, range: 1–18; body composition:  $9.8 \pm 1.04$  times, range: 1–35; total body mass:  $9.3 \pm 1.04$  times, range: 1–47). Measurement frequency varied from three measurement periods in 2016–2017 to 11 and 12 measurement periods in 2014–2015 and 2015–2016, respectively, when we could obtain data on each bird every other week for a full yearly cycle. Meta perf = metabolic performance; body comp = body composition.

**Table A.2** Measurement sequence and sample size across years for  $M_{\text{sum}}$  and BMR [metabolic performance (Meta. perf.)], haematocrit (HCT), pectoral muscle thickness (muscles), total, fat and lean body mass (body composition). Numbers in parentheses in metabolic performance are sample sizes for  $M_{\text{sum}}$  when different from BMR. Numbers in parentheses in HCT & Muscles are sample sizes for haematocrit when different from muscle thickness. Fat and lean mass measurements by QMR began in 2015. (Moult) means that individual moult scores were measured on birds at the same time as the body composition measurements. As we were interested in tracking intra-individual phenotypic variation, each bird was measured from mid-March to August over the 5 years (metabolic performance:  $8.8 \pm 0.4$  times, range 3-10 times; body composition:  $12.4 \pm 1.3$  times, range 1-47 times). Measurement frequency varied from 5 measurement periods in 2014 to 21 measurement periods in 2015.

Captive birds - Rimouski							
Month		2014	2015		2016	2017	2018
		Body comp.	Meta. Perf.	HCT & Muscles	Body comp.	Body comp.	Body comp.
December	1	17	(21) 24	25	25	13	18
	2			22	22	13	18
January	1		22	23	23	12	18
	2	23		22	22	19	25
February	1			24	24	20	23
	2	15	(29)25	25	25		
March	1		23	23 (23)	23		23
	2			0 (21)	21	26	
	3		7	7 (27)	27	29	
April	1	34 (0)	20	20 (20)	20		27
	2				24	30	
	3	31 (0)	24	24 (24)	24 (25)	21	
May	1		22 (23)	23 (23)	23	44 (29)	26
	2				19	27	
	3	32 (0)	22	22 (22)	22	44	
	4				23		27
June	1		21 (22)	23 (23)	23		27
	2				23	26 (0)	
	3		23 (20)	23 (23)	24		26 (Molt)
	4				19		
	5	32 (0)			16		
July	1		20	20 (20)	20	42	25 (Molt)
	2				18	38 (0)	
	3		20 (21)	21 (18)	21	24	24 (Molt)
	4				19		
August	1			19 (0)	19	32	23 (Molt)
	2	27 (0)	17 (19)	19 (0)	19	24 (0)	23 (Molt)

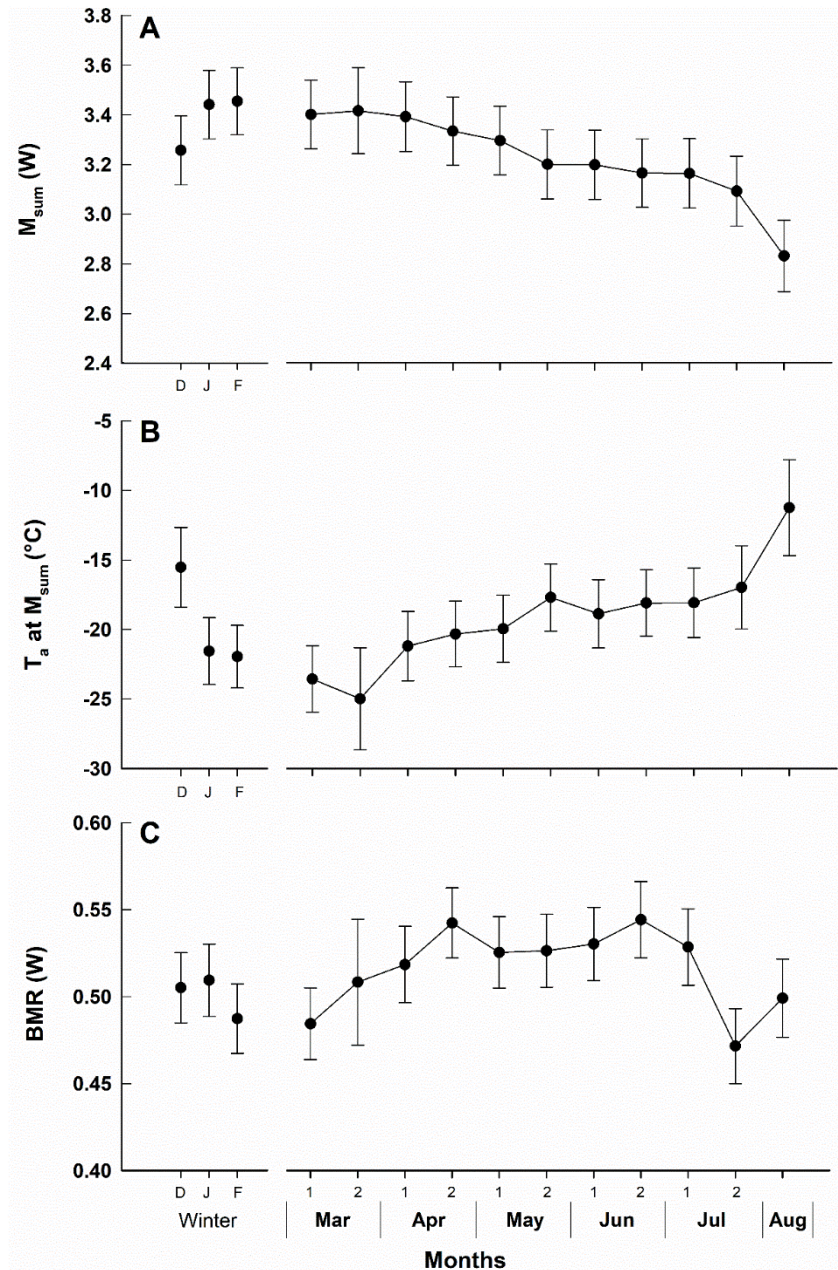
**Table A.3** Sample size across years and periods for body mass, fat score, hematocrit, pectoralis muscle thickness,  $M_{\text{sum}}$  and BMR in snow buntings measured in winter in Rimouski, Québec, Canada and in pre-breeding at Alert, Nunavut, Canada. Blue values correspond to the number of males and red values to the number of females.

		Body mass	Fat score	Hematocrit	Pectoralis muscles	$M_{\text{sum}}$	BMR
<b>Winter</b>	<b>2015</b>	205 - 18	205 - 18	0 - 0	0 - 0	0 - 0	0 - 0
	<b>2016</b>	156 - 9	159 - 9	25 - 2	40 - 2	19 - 2	20 - 2
	<b>2017</b>	125 - 3	127 - 4	23 - 1	0 - 1	0 - 0	19 - 1
	<b>2018</b>	35 - 2	35 - 2	0 - 0	0 - 0	14 - 1	14 - 1
<b>Pre-breeding</b>	<b>2016</b>	11 - 4	11 - 4	10 - 4	10 - 4	0 - 0	9 - 4
	<b>2017</b>	162 - 32	163 - 32	77 - 17	59 - 13	17 - 5	33 - 10
	<b>2018</b>	35 - 13	35 - 13	29 - 13	5 - 3	3 - 1	11 - 4
	<b>2019</b>	5 - 1	5 - 1	4 - 1	4 - 1	3 - 1	4 - 1



**Table A.4** Sample size across years and life-history stages for body mass, fat score, hematocrit, pectoralis muscle thickness,  $M_{\text{sum}}$  and BMR in snow buntings measured at Alert, Nunavut, Canada. Blue values correspond to the number of males and red values to the number of females.

		Body mass	Fat score	Hematocrit	Pectoralis muscles	$M_{\text{sum}}$	BMR
<b>Pre-breeding</b>	<b>2016</b>	11 - 4	11 - 4	10 - 4	10 - 4	0 - 0	9 - 4
	<b>2017</b>	162 - 32	163 - 33	78 - 17	59 - 13	17 - 6	33 - 10
	<b>2018</b>	35 - 14	35 - 14	29 - 13	5 - 3	3 - 2	11 - 4
	<b>2019</b>	5 - 1	5 - 1	4 - 1	4 - 1	3 - 1	4 - 1
<b>Territorial</b>	<b>2016</b>	8	8	8	8	0	7
	<b>2017</b>	22	22	22	21	7	16
	<b>2018</b>	14	14	14	14	6	10
	<b>2019</b>	21	22	17	20	18	19
<b>Breeding</b>	<b>2016</b>	2 - 2	3 - 2	3 - 2	3 - 2	0 - 0	3 - 2
	<b>2017</b>	14 - 2	14 - 2	14 - 2	9 - 1	4 - 1	7 - 1
	<b>2018</b>	9 - 7	9 - 7	9 - 7	8 - 7	5 - 5	6 - 3
	<b>2019</b>	4 - 4	5 - 4	4 - 1	5 - 2	5 - 1	5 - 2



**Figure A.1** Intra-seasonal variation in metabolic performance in 2015 in outdoor captive snow buntings. Data are least square means by period within months for  $M_{sum}$  (A),  $T_a$  at  $M_{sum}$  (B) and BMR (C). Least square means were obtained from mixed-effects models controlling for period with bird ID as a random parameter. Winter values for 2015 were extracted from the same models. Data are least square means with error bars representing 95% confidence intervals.

# RÉFÉRENCES

- Alerstam, T., & Lindström, Å. (1990). Optimal bird migration. Dans E. Gwinner (Éd.), *Bird migration: Physiology and ecophysiology* (pp. 331-351). Berlin: Springer-Verlag.
- Anderson, W. L. (1970). Seasonal changes in thymus weights in ring-necked pheasants. *The Condor*, 72(2), 205-208.
- Arens, J. R., & Cooper, S. J. (2005). Metabolic and ventilatory acclimatization to cold stress in house sparrows (*Passer domesticus*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 78(4), 579-589.
- Askenmo, C. (1977). Effects of addition and removal of nestlings on nestling weight, nestling survival, and female weight loss in the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca* (Pallas). *Oikos*, 8(1), 1-8.
- Bairlein, F. (1985). Efficiency of food utilization during fat deposition in the long-distance migratory garden warbler, *Sylvia borin*. *Oecologia*, 68(1), 118-125.
- Bairlein, F., & Gwinner, E. (1994). Nutritional mechanisms and temporal control of migratory energy accumulation in birds. *Annual review of nutrition*, 14(1), 187-215.
- Bairlein, F., & Totzke, U. (1992). New aspects on migratory physiology of trans-Saharan passerine migrants. *Ornis Scandinavica*, 23(3), 244-250.
- Banks, K. W., Clark, H., Mac Kay, I. R. K., Mac Kay, S. G., & Sellers, R. M. (1989). Biometrics and pre-migratory fattening in the snow bunting *Plectrophenax nivalis*. *Ringing and Migration*, 10(3), 141-158.
- Banks, K. W., Clark, H., Mackay, I. R. K., Mackay, S. G., & Sellers, R. M. (1991). Origins, population structure and movements of snow buntings *Plectrophenax nivalis* wintering in highland region, Scotland. *Bird Study*, 38(1), 10-19.
- Barceló, G., Love, O. P., & Vézina, F. (2017). Uncoupling basal and summit metabolic rates in white-throated sparrows: Digestive demand drives maintenance costs, but changes in muscle mass are not needed to improve thermogenic capacity. *Physiological and Biochemical Zoology*, 90(2), 153-165.

- Barnett, L. B. (1970). Seasonal changes in temperature acclimatization of the house sparrow, *Passer domesticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 33(3), 559-578.
- Barrio, A. M., Lamichhaney, S., Fan, G., Rafati, N., Pettersson, M., Zhang, H., Dainat, J., Ekman, D., Höppner, M., Jern, P., ... Andersson, L. (2016). The genetic basis for ecological adaptation of the Atlantic herring revealed by genome sequencing. *eLife*, 5(e12081), 1-32.
- Bartholomew, G. A., Vleck, D., & Vleck, C. M. (1981). Instantaneous measurements of oxygen consumption during pre-flight warm-up and post-flight cooling in sphingid and saturniid moths. *Journal of Experimental Biology*, 90(1), 17-32.
- Battley, P. F., Dekinga, A., Dietz, M. W., Piersma, T., Tang, S., & Hulsman, K. (2001). Basal metabolic rate declines during long-distance migratory flight in great knots. *The Condor*, 103(4), 838.
- Battley, P. F., & Piersma, T. (1997). Body composition of lesser knots (*Calidris canutus rogersi*) preparing to take off on migration from northern New Zealand. *Notornis*, 44, 137-150.
- Battley, P. F., Piersma, T., Dietz, M. W., Tang, S., Dekinga, A., & Hulsman, K. (2000). Empirical evidence for differential organ loss during trans-oceanic bird flight. *Proceedings of the Royal Society London B*, 267, 191-195.
- Battley, P. F., Warnock, N., Tibbitts, T. L., Gill, R. E., Piersma, T., Hassell, C. J., Douglas, D. C., Mulcahy, D. M., Gartrell, B. D., Schuckard, R., ... Riegen, A. C. (2012). Contrasting extreme long-distance migration patterns in bar-tailed godwits *Limosa lapponica*. *Journal of Avian Biology*, 43(1), 21-32.
- Bauchinger, U., & Biebach, H. (2001). Differential catabolism of muscle protein in garden warblers (*Sylvia borin*): Flight and leg muscle act as a protein source during long-distance migration. *Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 171(4), 293-301.
- Bauchinger, U., & Biebach, H. (2005). Phenotypic flexibility of skeletal muscles during long-distance migration of garden warblers: Muscle changes are differentially related to body mass. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1046, 271-281.
- Bauchinger, U., & McWilliams, S. R. (2009). Carbon turnover in tissues of a passerine bird: Allometry, isotopic clocks, and phenotypic flexibility in organ size. *Physiological and Biochemical Zoology*, 82(6), 787-797.

- Bauchinger, U., & McWilliams, S. R. (2010a). Carbon turnover in tissues of a passerine bird: Allometry, isotopic clocks, and phenotypic flexibility in organ size. *Physiological and Biochemical Zoology*, 83(6), 1032-1032.
- Bauchinger, U., & McWilliams, S. R. (2010b). Extent of phenotypic flexibility during long-distance flight is determined by tissue-specific turnover rates: A new hypothesis. *Journal of Avian Biology*, 41(6), 603-608.
- Bauchinger, U., Wohlmann, A., & Biebach, H. (2005). Flexible remodeling of organ size during spring migration of the garden warbler (*Sylvia borin*). *Zoology*, 108(2), 97-106.
- Bengston, S. E., Dahan, R. A., Donaldson, Z., Phelps, S. M., Van Oers, K., Sih, A., & Bell, A. M. (2018). Genomic tools for behavioural ecologists to understand repeatable individual differences in behaviour. *Nature Ecology and Evolution*, 2(6), 944-955.
- Bennett, S., Duarte, C. M., Marbà, N., & Wernberg, T. (2019). Integrating within-species variation in thermal physiology into climate change ecology. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374(1778), 20180550.
- Berthold, P., Gwinner, E., & Sonnenschein, E. (2003). *Avian Migration*. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Bicudo, J. E. P., Buttemer, W. A., Chappell, M. A., Pearson, J. T., & Bech. (2010). *Ecological and environmental physiology of birds*. New-York: Oxford University Press.
- Biebach, H., & Bauchinger, U. (2003). Energetic savings by organ adjustment during long migratory flights in garden warblers (*Sylvia borin*). Dans *Avian migration* (pp. 269-280). Berlin, Heidelberg: Springer.
- BirdLife International. (2021). Species factsheet: *Plectrophenax nivalis*. Repéré à <http://datazone.birdlife.org/species/factsheet/snow-bunting-plectrophenax-nivalis>
- Blem, C. R. (1976). Patterns of lipid storage and utilization in birds. *American Zoologist*, 16(4), 671-684.
- Blem, C. R. (1980). The energetics of migration. Dans S. A. J. Gauthreaux (Éd.), *Animal migration, orientation, and navigation* (pp. 175-224). New-York: Academic press.
- Blem, C. R. (1990). Avian energy storage. *Current Ornithology*, 7, 59-113.

- Boyle, W. A., Winkler, D. W., & Guglielmo, C. G. (2012). Rapid loss of fat but not lean mass prior to chick provisioning supports the flight efficiency hypothesis in tree swallows. *Functional Ecology*, 26(4), 895-903.
- Brigham, R. M. (1992). Daily torpor in a free-ranging goatsucker, the common poorwill (*Phalacrocorax nuttallii*). *Physiological Zoology*, 65(2), 457-472.
- Brodin, A. (2001). Mass-dependent predation and metabolic expenditure in wintering birds: is there a trade-off between different forms of predation? *Animal Behaviour*, 62(5), 993-999.
- Brodin, A. (2007). Theoretical models of adaptive energy management in small wintering birds. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 362(1486), 1857-1871.
- Broggi, J., Hohtola, E., Koivula, K., Orell, M., Thomson, R. L., & Nilsson, J. Å. (2007). Sources of variation in winter basal metabolic rate in the great tit. *Functional Ecology*, 21(3), 528-533.
- Brooks, W. S. (1968). Comparative adaptations of the Alaskan redpolls to the Arctic environment. *The Wilson Bulletin*, 80(3), 253-280.
- Buehler, D. M., Vézina, F., Goymann, W., Schwabl, I., Versteegh, M. A., Tieleman, B. I., & Piersma, T. (2012). Independence among physiological traits suggests flexibility in the face of ecological demands on phenotypes. *Journal of Evolutionary Biology*, 25(8), 1600-1613.
- Burns, J. G., & Ydenberg, R. C. (2002). The effects of wing loading and gender on the escape flights of least sandpipers (*Calidris minutilla*) and western sandpipers (*Calidris mauri*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 52(2), 128-136.
- Burton, T., Killen, S. S., Armstrong, J. D., & Metcalfe, N. B. (2011). What causes intraspecific variation in resting metabolic rate and what are its ecological consequences? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278, 3465-3473.
- Bush, N. G., Brown, M., & Downs, C. T. (2008). Effects of short-term acclimation on thermoregulatory responses of the rock kestrel, *Falco rupicolus*. *Journal of Thermal Biology*, 33(8), 425-430.

- Butcher, G. S., & Niven, D. K. (2007). *Combining data from the Christmas Bird Count and the Breeding Bird Survey to determine the continental status and trends of North America birds*. Ivyland, PA, USA: National Audubon Society.
- Butler, P. J., & Woakes, A. J. (1990). The physiology of bird flight. Dans E. Gwinner (Éd.), *Bird migration - Physiology and ecophysiology* (pp. 300-318). Berlin, Heidelberg: Springer.
- Buttemer, W. A., & Astheimer, L. B. (2000). Testosterone does not affect basal metabolic rate or blood parasite load in captive male white-plumed honeyeaters *Lichenostomus penicillatus*. *Journal of Avian Biology*, 31(4), 479-488.
- Calder, W. A., & King, J. R. (1974). Thermal and caloric relations of birds. Dans D. Farner, J. King, & K. Parkes (Éds), *Avian biology* (Vol. 4, pp. 259-413). New York: Elsevier.
- Careau, V., Hoye, B. J., O'Dwyer, T. W., & Buttemer, W. A. (2014). Among- and within-individual correlations between basal and maximal metabolic rates in birds. *Journal of Experimental Biology*, 217(20), 3593-3596.
- Carey, C., Dawson, W. R., Maxwell, L. C., & Faulkner, J. A. (1978). Seasonal acclimatization to temperature in cardueline finches II. Changes in body composition and mass in relation to season and acute cold stress. *Journal of Comparative Physiology*, 125(2), 101-113.
- Carey, C., & Morton, M. L. (1976). Aspects of circulatory physiology of montane and lowland birds. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 54(1), 61-74.
- Caro, S. P., Lambrechts, M. M., Chastel, O., Sharp, P. J., Thomas, D. W., & Balthazart, J. (2006). Simultaneous pituitary-gonadal recrudescence in two Corsican populations of male blue tits with asynchronous breeding dates. *Hormones and Behavior*, 50(3), 347-360.
- Carter, W. A., Whiteman, J. P., Cooper-mullin, C., Newsome, S. D., & McWilliams, S. R. (2019). Dynamics of individual fatty acids in muscle fat stores and membranes of a songbird and its functional and ecological importance. *Physiological and biochemical Zoology*, 92(2), 239-251.
- Chaplin, S. B. (1974). Daily energetics of the black-capped chickadee, *Parus atricapillus*, in winter. *Journal of Comparative Physiology*, 89(4), 321-330.

- Chappell, M. A., Bech, C., & Buttemer, W. A. (1999). The relationship of central and peripheral organ masses to aerobic performance variation in house sparrows. *The Journal of experimental biology*, 202(17), 2269-2279.
- Chilgren, J. D. (1977). Body composition of captive white-crowned sparrows during postnuptial molt. *The Auk*, 94(October), 677-688.
- Chilgren, J. D., & DeGraw, W. A. (1977). Some blood characteristics of white-crowned sparrows during molt. *The Auk*, 94(1), 169-171.
- Condor, S. T., Summer, N., Morton, M. L., Horstmann, J. L., & Osborn, J. M. (1972). Reproductive cycle and nesting success of the mountain white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys oriantha*) in the central Sierra Nevada. *The Condor*, 74(2), 152-163.
- Conseil canadien pour la conservation des espèces en péril. (2016). *Espèces sauvages 2015: la situation générale des espèces au Canada*. Groupe de travail national sur la situation générale.
- Cook, S. A., & Johnson, M. P. (1968). Adaptation to heterogeneous environments. I. Variation in heterophylly in *Ranunculus flammula* L. *Evolution*, 22(3), 496-516.
- Cooper, S. J. (1999). The thermal and energetic significance of cavity roosting in mountain chickadees and juniper titmice. *Condor*, 101(4), 863-866.
- Cooper, S. J. (2000). Seasonal energetics of mountain chickadees and juniper titmice. *The Condor*, 635-644.
- Cooper, S. J. (2002). Seasonal metabolic acclimatization in mountain chickadees and juniper titmice. *Physiological and Biochemical Zoology*, 75(4), 386-395.
- Cooper, S. J. (2007). Daily and seasonal variation in body mass and visible fat in mountain chickadees and juniper titmice. *The Wilson Journal of Ornithology*, 119(4), 720-724.
- Cooper, S. J., & Sonsthagen, S. (2007). Heat production from foraging activity contributes to thermoregulation in Black-capped Chickadees. *Condor*, 109(2), 446-451.
- Cooper, S. J., & Swanson, D. L. (1994). Seasonal acclimatization of thermoregulation in the black-capped chickadee. *The Condor*, 96(3), 638-646.



- Corder, K. R., & Schaeffer, P. J. (2015). Summit metabolic rate exhibits phenotypic flexibility with migration, but not latitude in a neotropical migrant, *Parkesia noveboracensis*. *Journal of Ornithology*, *156*(2), 547-550.
- Cramp, S., & Perrins, C. M. (1994). *The birds of the Western Palearctic: Vol. IX buntings and New World warblers*. Oxford: University Press.
- Cristol, D. A., Baker, M. B., & Carbone, C. (1999). Differential migration revisited: Latitudinal segregation by age and sex class. *Current Ornithology*, *15*, 33-88.
- Daan, S., Masman, D., & Groenewold, A. (1990). Avian basal metabolic rates: Their association with body composition and energy expenditure in nature. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *259*(2), R333-R340.
- Dawson, W. R., & Marsh, R. L. (1986). Winter fattening in the American goldfinch and the possible role of temperature in its regulation. *Physiological Zoology*, *59*(3), 357-368.
- Dawson, W. R., Marsh, R. L., Buttemer, W. A., & Carey, C. (1983). Seasonal and geographic variation of cold resistance in house finches *Carpodacus mexicanus*. *Physiological Zoology*, *56*(3), 353-369.
- Dawson, W. R., Marsh, R. L., & Yacoe, M. E. (1983). Metabolic adjustments of small passerine birds for migration and cold. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *245*(6), R755-R767.
- DeGraw, W. A., Kern, M. D., & King, J. R. (1979). Seasonal changes in the blood composition of captive and free-living white-crowned sparrows. *Journal of Comparative Physiology B*, *129*(2), 151-162.
- Dietz, M. W., Dekinga, A., Piersma, T., & Verhulst, S. (1999). Estimating organ size in small migrating shorebirds with ultrasonography: An intercalibration exercise. *Physiological and Biochemical Zoology*, *72*(1), 28-37.
- Dietz, M. W., Piersma, T., & Dekinga, A. (1999). Body-building without power training: Endogenously regulated pectoral muscle hypertrophy in confined shorebirds. *Journal of Experimental Biology*, *202*, 2831-2837.
- Dietz, M. W., Piersma, T., Hedenström, A., & Brugge, M. (2007). Intraspecific variation in avian pectoral muscle mass: constraints on maintaining manoeuvrability with increasing

- body mass. *Functional Ecology*, 21(2), 317-326.
- Drent, R. H., Both, C., Green, M., Madsen, J., & Piersma, T. (2003). Pay-offs and penalties of competing migratory schedules. *Oikos*, 103(2), 274-292.
- Drent, R. H., & Daan, S. (1980). The Prudent Parent: Energetic Adjustments in Avian Breeding. *Ardea*, 68, 225-252.
- Driedzic, W. R., Crowe, H. L., Hicklin, P. W., & Sephton, D. H. (1993). Adaptations in pectoralis muscle, heart mass, and energy metabolism during premigratory fattening in semipalmated sandpipers (*Calidris pusilla*). *Canadian Journal of Zoology*, 71(8), 1602-1608.
- Dubois, K., Hallot, F., & Vézina, F. (2016). Basal and maximal metabolic rates differ in their response to rapid temperature change among avian species. *Journal of Comparative Physiology B*, 186(7), 919-935.
- Dutenhoffer, M. S., & Swanson, D. L. (1996). Relationship of basal to summit metabolic rate in passerine birds and the aerobic capacity model for the evolution of endothermy. *Physiological zoology*, 69(5), 1232-1254.
- Edwards, S. C., Bernard, A., & Healy, S. D. (2018). Behaviour: Nesting, brooding, parental care, birds. Dans *Encyclopedia of Reproduction* (2nd éd., pp. 102-105). San Diego: Academic Press, Elsevier.
- Ettinger, A. O., & King, J. R. (1980). Time and energy budgets of the willow flycatcher *Empidonax traillii* during the breeding season. *Auk*, 97, 533-546.
- Evans, J. K., Buchanan, K. L., Griffith, S. C., Klasing, K. C., & Addison, B. A. (2017). Ecoimmunology and microbial ecology: Contributions to avian behavior, physiology, and life history. *Hormones and Behavior*, 88, 112-121.
- Evans, P. R. (1969). Winter fat deposition and overnight survival of yellow buntings (*Emberiza citrinella* L.). *Journal of Animal Ecology*, 38(2), 415-423.
- Evans, R. D., Davidson, N. C., Uttley, J. D., & Evans, R. D. (1992). Premigratory hypertrophy of flight muscles: An ultrastructural study. *Oikos*, 23(3), 238-243.
- Eyster, M. (1954). Quantitative measurement of the influence of photoperiod, temperature, and season on the activity of captive songbirds. *Ecological Monographs*, 24(1), 1-28.

- Fair, J. M., Whitaker, S., & Pearson, B. (2007). Sources of variation in haematocrit in birds. *Ibis*, (July), 535-552.
- Fogden, M. P. L., & Fogden, P. M. (1979). The role of fat and protein reserves in the annual cycle of the Grey-backed camaroptera in Uganda (Aves: Syhidae). *Journal of Zoology*, 189(2), 233-258.
- Fox, A. D., Francis, I. S., Madsen, J., & Stroud, J. M. (1987). The breeding biology of the Lapland bunting *Calcarius lapponicus* in West Greenland during two contrasting years. *Ibis*, 129, 541-552.
- Fry, C. H., Ferguson-Lees, I. J., & Dowsett, R. J. (1972). Flight muscle hypertrophy and ecophysiological variation of Yellow wagtail *Motacilla flava* races at Lake Chad. *Journal of Zoology*, 167(3), 293-306.
- Gaunt, A. S., Hikida, R. S., Jehl, J. R., & Fenbert, L. (1990). Rapid atrophy and hypertrophy of an avian flight muscle. *The Auk*, 107(4), 649-659.
- Gerson, A. R., & Guglielmo, C. G. (2011). Flight at low ambient humidity increases protein catabolism in migratory birds. *Science*, 333(6048), 1434-1436.
- Gessaman, J. A., & Nagy, K. A. (1988). Energy metabolism: Errors in gas-exchange conversion factors. *Physiological Zoology*, 61(6), 507-513.
- Gilbert, C. (2006). *Le comportement de thermoregulation sociale : Son importance pour l'économie d'énergie*. Université Louis Pasteur Strasbourg.
- Gilbert, C., McCafferty, D., Le Maho, Y., Martrette, J. M., Giroud, S., Blanc, S., & Ancel, A. (2010). One for all and all for one: The energetic benefits of huddling in endotherms. *Biological Reviews*, 85(3), 545-569.
- Gilg, O., Istomina, L., Heygster, G., Strøm, H., Gavriilo, M. V., Mallory, M. L., Gilchrist, G., Aebischer, A., Sabard, B., Huntemann, M., ... Yannic, G. (2016). Living on the edge of a shrinking habitat: The ivory gull, *Pagophila eburnea*, an endangered sea-ice specialist. *Biology Letters*, 12(11), 20160277.
- Gill, R. E., Tibbitts, T. L., Douglas, D. C., Handel, C. M., Mulcahy, D. M., Gottschalck, J. C., Warnock, N., McCaffery, B. J., Battley, P. F., & Piersma, T. (2008). Extreme endurance flights by landbirds crossing the Pacific Ocean: Ecological corridor rather than barrier? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1656),

447-457.

- Gosler, A. G. (1996). Environmental and social determinants of winter fat storage in the great tit *Parus major*. *Journal of Animal Ecology*, *65*(1), 1-17.
- Grabowski, M. M., Doyle, F. I., Reid, D. G., Mossop, D., & Talarico, D. (2013). Do Arctic-nesting birds respond to earlier snowmelt? A multi-species study in north Yukon, Canada. *Polar Biology*, *36*(8), 1097-1105.
- Grant, P. R., & Grant, B. R. (2002). Unpredictable evolution in a 30-year study of Darwin's finches. *Science*, *296*(5568), 707-711.
- Guglielmo, C. G. (2018). Obese super athletes: Fat-fueled migration in birds and bats. *The Journal of Experimental Biology*, *221*(Suppl 1), jeb165753.
- Guglielmo, C. G., Haunerland, N. H., Hochachka, P. W., & Williams, T. D. (2002). Seasonal dynamics of flight muscle fatty acid binding protein and catabolic enzymes in a migratory shorebird. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, *282*(5), 1405-1413.
- Guglielmo, C. G., McGuire, L. P., Gerson, A. R., & Seewagen, C. L. (2011). Simple, rapid, and non-invasive measurement of fat, lean, and total water masses of live birds using quantitative magnetic resonance. *Journal of Ornithology*, *152*(1), S75-S85.
- Guglielmo, C. G., & Williams, T. D. (2003). Phenotypic flexibility of body composition in relation to migratory state, age, and sex in the Western sandpiper (*Calidris mauri*). *Physiological and Biochemical Zoology*, *76*(1), 84-98.
- Guindre-Parker, S., Baldo, S., Gilchrist, H. G., Macdonald, C. A., Harris, C. M., & Love, O. P. (2013). The oxidative costs of territory quality and offspring provisioning. *Journal of Evolutionary Biology*, *26*(12), 2558-2565.
- Guindre-Parker, S., Gilchrist, H. G., Baldo, S., & Love, O. P. (2013). Alula size signals male condition and predicts reproductive performance in an Arctic-breeding passerine. *Journal of Avian Biology*, *44*(3), 209-215.
- Guindre-Parker, S., Grant Gilchrist, H., Baldo, S., Doucet, S. M., & Love, O. P. (2013). Multiple achromatic plumage ornaments signal to multiple receivers. *Behavioral Ecology*, *24*(3), 672-682.

- Gwinner, E., & Czeschlik, D. (1978). On the significance of spring migratory restlessness in caged birds. *Oikos*, 30(2), 364-372.
- Haftorn, S. (1959). The proportion of spruce seeds removed by the tits in a Norwegian spruce forest in 1954-55. *Klong. Norske Vidensk. Selk. Forth*, 32, 121-125.
- Hammond, K. A., Chappell, M. A., Cardullo, R. A., Lin, R.-S., & Johnsen, T. S. (2000). The mechanistic basis of aerobic performance variation in red junglefowl. *The Journal of experimental biology*, 203(13), 2053-2064.
- Harrison, X. A., Blount, J. D., Inger, R., Norris, D. R., & Bearhop, S. (2011). Carry-over effects as drivers of fitness differences in animals. *Journal of Animal Ecology*, 80(1), 4-18.
- Hart, J. S. (1962). Seasonal acclimatisation in four species of wild birds. *Physiological Zoology*, 35, 224-236.
- Hatch, M. I., & Smith, R. J. (2010). Repeatability of hematocrits and body mass of gray catbirds. *Journal of Field Ornithology*, 81(1), 64-70.
- Hedenstrom, A. (1993). Migration by soaring or flapping flight in birds: The relative importance of energy cost and speed. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 342(1302), 353-361.
- Hegner, R. E., & Wingfield, J. C. (1986). Gonadal development during autumn and winter in house sparrows. *The Condor*, 88(3), 269-278.
- Hill, J. A., & Olson, E. N. (2008). Cardiac Plasticity. *New England Journal of Medicine*, 358(13), 1370-1380.
- Hill, R. W., Wyse, G. A., & Anderson, M. (2012). *Animal Physiology* (Third Edit). Oxford: University Press.
- Hohtola, E. (2004). Shivering thermogenesis in birds and mammals. Dans *Life in the cold: Evolution, mechanisms, adaptation, and application. 12th International Hibernation Symposium* (pp. 241-252). Institute of Arctic Biology.
- Hohtola, E., Rintamäki, H., & Hissa, R. (1980). Shivering and piloerection as complementary cold defense responses in the pigeon during sleep and wakefulness. *Journal of Comparative Physiology*, 136(1), 77-81.

- Houston, D. C., Donnan, D., Jones, P., Hamilton, I., & Osborne, D. (1995). Changes in the muscle condition of female zebra finches *Poephila guttata* during egg laying and the role of protein storage in bird skeletal muscle. *Ibis*, *137*(3), 322-328.
- Houston, D. C., Donnan, D., & Jones, P. J. (1995a). The source of the nutrients required for egg production in zebra finches *Poephila guttata*. *Journal of Zoology*, *235*(3), 469-483.
- Houston, D. C., Donnan, D., & Jones, P. J. (1995b). Use of labelled methionine to investigate the contribution of muscle proteins to egg production in zebra finches. *Journal of Comparative Physiology*, *165*(2), 161-164.
- Høye, T. T., Post, E., Møltøfte, H., Schmidt, N. M., & Forchhammer, M. C. (2007). Rapid advancement of spring in the High Arctic. *Current Biology*, *17*(12), 449-451.
- Hume, I. D., & Biebach, H. (1996). Digestive tract function in the long-distance migratory garden warbler, *Sylvia borin*. *Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, *166*(6), 388-395.
- Hussell, D. J. T. (1972). Factors affecting clutch size in Arctic passerines. *Ecological Monographs*, *42*(3), 317-364.
- Jacobs, J. D., & Wingfield, J. C. (2000). Endocrine control of life-cycle stages: A constraint on response to the environment? *Condor*, *102*(1), 35-51.
- Jehl, J. R. (1997). Cyclical changes in body composition in the annual cycle and migration of the eared grebe *Podiceps nigricollis*. *Journal of Avian Biology*, *28*(2), 132-142.
- Jenni, L., & Jenni-Eiermann, S. (1998). Fuel supply and metabolic constraints in migrating birds fuel supply and metabolic constraints in migrating birds. *Journal of Avian Biology*, *29*(4), 521-528.
- Jenni, L., Müller, S., Spina, F., Kvist, A., & Lindström, Å. (2006). Effect of endurance flight on haematocrit in migrating birds. *Journal of Ornithology*, *147*(4), 531-542.
- Jetz, W., Freckleton, R. P., & McKechnie, A. E. (2008). Environment, migratory tendency, phylogeny and basal metabolic rate in birds. *PloS one*, *3*(9), e3261.
- Johnson, S. R., & Herter, D. R. (1990). Bird migration in the Arctic: A review. Dans *Bird migration* (pp. 22-43). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

- Karagicheva, J., Rakhimberdiev, E., Dekinga, A., Brugge, M., Koolhaas, A., Ten Horn, J., & Piersma, T. (2016). Seasonal time keeping in a long-distance migrating shorebird. *Journal of Biological Rhythms*, 31(5), 509-521.
- Karasov, W. H., & Martinez del Rio, C. (2007). *Physiological ecology: How animals process energy, nutrients, and toxins*. Princeton: University press.
- Karasov, W. H., & Pinshow, B. (1998). Changes in lean mass and in organs of nutrient assimilation in a long-distance passerine migrant at a springtime stopover site. *Physiological Zoology*, 71(4), 435-448.
- Kersten, M., & Piersma, T. (1987). High levels of energy expenditure in shorebirds; Metabolic adaptations to an energetically expensive way of life. *Ardea*, 75(1), 175-187.
- Ketterson, E. D., & Nolan, V. (1976). Geographic variation and its climatic correlates in the sex ratio of Eastern-wintering dark-eyed juncos (*Junco hyemalis hyemalis*). *Ecology*, 57(4), 679-693.
- King, J. R. (1961). The bioenergetics of vernal premigratory fat deposition in the white-crowned sparrow. *The Condor*, 63(2), 128-142.
- King, J. R., & Farner, D. S. (1961). Energy metabolism, thermoregulation and body temperature. Dans A. J. Marshall (Éd.), *Biology and comparative physiology of birds* (pp. 215-288). New York and London: Academic press.
- King, J. R., Farner, D. S., & Morton, M. L. (1965). The lipid reserves of white-crowned sparrows on the breeding ground in Central Alaska. *The Auk*, 82(2), 236-252.
- King, J. R., & Murphy, M. E. (1990). Estimates of the mass of structures other than plumage produced during molt by white-crowned sparrows. *The Condor*, 92(4), 839-843.
- Klaassen, M., Kvist, A., & Lindström, Å. (2000). Flight costs and fuel composition of a bird migrating in a wind tunnel. *The Condor*, 102(2), 444-451.
- Kokko, H., Gunnarsson, T. G., Morrell, L. J., & Gill, J. A. (2006). Why do female migratory birds arrive later than males? *Journal of Animal Ecology*, 75(6), 1293-1303.
- Kontogiannis, J. E. (1968). Effect of temperature and exercise on energy intake and body weight of the white-throated sparrow *Zonotrichia albicollis*. *Physiological Zoology*, 41(1), 54-64.

- Krause, J. S., Németh, Z., Pérez, J. H., Chmura, H. E., Ramenofsky, M., & Wingfield, J. C. (2016). Annual hematocrit profiles in two subspecies of white-crowned sparrow: A migrant and a resident comparison. *Physiological and Biochemical Zoology*, 89(1), 51-60.
- Krause, J. S., Pérez, J. H., Chmura, H. E., Sweet, S. K., Meddle, S. L., Hunt, K. E., Gough, L., Boelman, N. T., & Wingfield, J. C. (2016). The effect of extreme spring weather on body condition and stress physiology in Lapland longspurs and white-crowned sparrows breeding in the Arctic. *General and Comparative Endocrinology*, 237, 10-18.
- Kuenzel, W. J. (2003). Neurobiology of molt in avian species. *Poultry Science*, 82(6), 981-991.
- Kvist, A., & Lindström, Å. (2001). Basal metabolic rate in migratory waders: Intra-individual, intraspecific, interspecific and seasonal variation. *Functional Ecology*, 15(4), 465-473.
- Landys-Ciannelli, M. M., Jukema, J., & Piersma, T. (2002). Blood parameter changes during stopover in a long-distance migratory shorebird, the bar-tailed godwit *Limosa lapponica taymyrensis*. *Journal of Avian Biology*, 33(4), 451-455.
- Landys-Ciannelli, M. M., Piersma, T., & Jukema, J. (2003). Strategic size changes of internal organs and muscle tissue in the Bar-tailed Godwit during fat storage on a spring stopover site. *Functional Ecology*, 17(2), 151-159.
- Laplante, M.-P., McKinnon, E. A., Love, O. P., & Vézina, F. (2019). Flexible response to short-term weather in a cold-adapted songbird. *Journal of Avian Biology*, 50(2), 1-10.
- Latimer, C. E., Cooper, S. J., Karasov, W. H., & Zuckerberg, B. (2018). Does habitat fragmentation promote climate-resilient phenotypes? *Oikos*, 127(8), 1069-1080.
- Le Pogam, A., Love, O. P., Régimbald, L., Dubois, K., Hallot, F., Milbergue, M., Petit, M., S. O'Connor, R., & Vézina, F. (2020). Wintering snow buntings elevate cold hardiness to extreme levels but show no changes in maintenance costs. *Physiological and Biochemical Zoology*, 93(6), 417-433.
- Le Pogam, A., O'Connor, R. S., Love, O. P., Drolet, J., Régimbald, L., Roy, G., Laplante, M.-P., Berteaux, D., Tam, A., & Vézina, F. (2021). Snow buntings maintain winter-level cold endurance while migrating to the High Arctic. *Frontiers in Ecology and Evolution*, En révision.



- Le Pogam, A., O'Connor, R. S., Love, O. P., Petit, M., Régimbald, L., & Vézina, F. (2021). Coping with the worst of both worlds: Phenotypic adjustments for cold acclimatization benefit northward migration and arrival in the cold in an Arctic-breeding songbird. *Functional Ecology*, 35(6), 1240-1254.
- Lehikoinen, E. (1987). Seasonality of the daily weight cycle in wintering passerines and its consequences. *Ornis Scandinavica*, 18(3), 216-226.
- Lepage, D., Gauthier, G., & Menu, S. (2000). Reproductive consequences of egg-laying decisions in snow geese. *Journal of avian ecology*, 69, 414-427.
- Levitant, D. R. (1989). Density-dependent size regulation in diadema antillarum: Effects on fecundity and survivorship. *Ecology*, 70(5), 1414-1424.
- Lewden, A. (2017). *Stratégies de thermorégulation liées aux contraintes physiologiques et environnementales chez le manchot royal (Aptenodytes patagonicus)*. Université de Strasbourg.
- Lewis, R. A. (1975). Reproductive biology of the white-crowned sparrow. II. Environmental control of reproductive and associated cycles. *The Condor*, 77(2), 111-124.
- Lighton, J. R. B. (2019). *Measuring Metabolic Rates: A manual for scientists* (2nd ed). New-York: Oxford University Press.
- Liknes, E. T., & Swanson, D. L. (1996). Seasonal variation in cold tolerance, basal metabolic rate, and maximal capacity for thermogenesis in white-breasted nuthatches *Sitta carolinensis* and downy woodpeckers *Picoides pubescens*, two unrelated arboreal temperate residents. *Journal of Avian Biology*, 27(4), 279-288.
- Liknes, E. T., & Swanson, D. L. (2011). Phenotypic flexibility of body composition associated with seasonal acclimatization in passerine birds. *Journal of Thermal Biology*, 36(6), 363-370.
- Lindström, Å., & Alerstam, T. (1992). Optimal fat loads in migrating birds: A test of the time-minimization hypothesis. *American Naturalist*, 140(3), 477-491.
- Lindström, Å., & Klaassen, M. (2003). High basal metabolic rates of shorebirds while in the Arctic: A circumpolar view. *The Condor*, 105(3), 420-427.
- Lindström, Å., Kvist, A., Piersma, T., Dekinga, A., & Dietz, M. W. (2000). Avian pectoral

- muscle size rapidly tracks body mass changes during flight, fasting and fuelling. *Journal of Experimental Biology*, 203(5), 913-919.
- Lindström, Å., & Piersma, T. (1993). Mass changes in migrating birds: the evidence for fat and protein storage re-examined. *Ibis*, 135(1), 70-78.
- Love, O. P., Gilchrist, H. G., Descamps, S., Semeniuk, C. A. D., & Bêty, J. (2010). Pre-laying climatic cues can time reproduction to optimally match offspring hatching and ice conditions in an Arctic marine bird. *Oecologia*, 164, 277-286.
- Love, O. P., Macdonald, C. A., & Mckinnon, E. A. (2012). *Canadian Snow Bunting Banding Network Protocol*.
- Lovette, I. J., & Fitzpatrick, J. W. (2016). *Handbook of bird biology. The Cornell Lab of ornithology* (Third edit). Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.
- Lyon, B. E., & Montgomerie, R. D. (1985). Incubation feeding in snow buntings: Female manipulation or indirect male parental care? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 17(3), 279-284.
- Lyon, B. E., Montgomerie, R. D., & Hamilton, L. D. (1987). Male parental care and monogamy in snow buntings. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 20(5), 377-382.
- Macdonald, C. A., Fraser, K. C., Gilchrist, H. G., Kyser, T. K., Fox, J. W., & Love, O. P. (2012). Strong migratory connectivity in a declining arctic passerine. *Animal Migration*, 1(1), 23-30.
- Macdonald, C. A., Mckinnon, E. A., Gilchrist, H. G., & Love, O. P. (2016). Cold tolerance, and not earlier arrival on breeding grounds, explains why males winter further north in an Arctic-breeding songbird. *Journal of Avian Biology*, 47(1), 7-15.
- Maggini, I., & Bairlein, F. (2010). Endogenous rhythms of seasonal migratory body mass changes and nocturnal restlessness in different populations of northern wheatear *Oenanthe oenanthe*. *Journal of Biological Rhythms*, 25(4), 268-276.
- Mandin, C., & Vézina, F. (2012). Daily variations in markers of nutritional condition in wintering black-capped chickadee *Poecile atricapillus*. *Ibis*, 154(4), 791-802.
- Marsh, R. L. (1984). Adaptations of the gray catbird *Dumetella carolinensis* to long-distance migration: Flight muscle hypertrophy associated with elevated body mass.

- Physiological Zoology*, 57(1), 105-117.
- Marsh, R. L., & Dawson, W. R. (1982). Substrate metabolism in seasonally acclimatized American goldfinches. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 242(5), R563-R569.
- Marsh, R. L., & Dawson, W. R. (1989). Avian adjustments to cold. Dans L. C. H. Wang (Éd.), *Advances in comparative and environmental physiology* (Vol. 4, pp. 205–253). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Martin, K., & Wiebe, K. L. (2004). Coping mechanisms of alpine and Arctic breeding birds: Extreme weather and limitations to reproductive resilience. *Integrative and Comparative Biology*, 44(2), 177-185.
- Martins, T. L. F., & Wright, J. (1993). Cost of reproduction and allocation of food between parent and young in the swift (*Apus apus*). *Behavioral Ecology*, 4(3), 213-223.
- Masman, D., Gordijn, M., Daan, S., & Dijkstra, C. O. R. (1986). Ecological energetics of the kestrel: Field estimates of energy intake throughout the year. *Ardea*, 74(1), 24-39.
- Mason, D. D., Barboza, P. S., & Ward, D. H. (2007). Mass dynamics of wintering Pacific black brant: Body, adipose tissue, organ, and muscle masses vary with location. *Canadian Journal of Zoology*, 85(6), 728-736.
- McGuill, M. W., & Rowan, A. N. (1989). Biological effects of blood loss: Implications for sampling volumes and techniques. *ILAR Journal*, 31(4), 5-20.
- McKechnie, A. E. (2008). Phenotypic flexibility in basal metabolic rate and the changing view of avian physiological diversity: A review. *Journal of Comparative Physiology B*, 178(3), 235-247.
- McKechnie, A. E., & Lovegrove, B. G. (2002). Avian Facultative Hypothermic Responses : A Review. *The Condor*, 104(4), 705-724.
- McKechnie, A. E., Noakes, M. J., & Smit, B. (2015). Global patterns of seasonal acclimatization in avian resting metabolic rates. *Journal of Ornithology*, 156(1), 367-376.
- McKechnie, A. E., & Swanson, D. L. (2010). Sources and significance of variation in basal, summit and maximal metabolic rates in birds. *Current Zoology*, 56(6), 741-758.

- McKechnie, A. E., & Wolf, B. O. (2019). The physiology of heat tolerance in small endotherms. *Physiology*, *34*(5), 302-313.
- McKinnon, E. A., Laplante, M.-P., Love, O. P., Fraser, K. C., Mackenzie, S., & Vézina, F. (2019). Tracking landscape-scale movements of snow buntings and weather-driven changes in flock composition during the temperate winter. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *7*(329), 1-11.
- McKinnon, E. A., Macdonald, C. A., Gilchrist, H. G., & Love, O. P. (2016). Spring and fall migration phenology of an Arctic-breeding passerine. *Journal of Ornithology*, *157*(3), 681-693.
- McNab, B. K. (1997). On the utility of uniformity in the definition of basal rate of metabolism. *Physiological Zoology*, *70*(6), 718-720.
- McNab, K. (1971). On the ecological significance of Bergmann's rule. *Ecology*, *52*(5), 845-854.
- McNamara, J. M., & Houston, A. I. (1990). The value of fat reserves and the tradeoff between starvation and predation. *Acta Biotheoretica*, *38*(1), 37-61.
- McWilliams, S. R., Adkins-Regan, E., & Vleck, C. M. (2016). Bird physiology. Dans I. Lovette & J. W. Fitzpatrick (Éds), *Handbook of bird biology* (Third edit, pp. 215-262). Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.
- McWilliams, S. R., Guglielmo, C. G., Pierce, B. J., & Klaassen, M. (2004). Flying, fasting, and feeding in birds during migration: A nutritional and physiological ecology perspective. *Journal of Avian Biology*, *35*(5), 377-393.
- Meltofte, H. (1983). Arrival and pre-nesting period of the snow bunting *Plectrophenax nivalis* in East Greenland. *Polar Research*, *1*(2), 185-198.
- Merkle, M. S., & Barclay, R. M. R. (1996). Body mass variation in breeding mountain bluebirds *sialia currucoides*: Evidence of stress or adaptation for flight? *The Journal of Animal Ecology*, *65*(4), 401-413.
- Milbergue, M. S., Blier, P. U., & Vézina, F. (2018). Large muscles are beneficial but not required for improving thermogenic capacity in small birds. *Scientific Reports*, *8*(1), 14009.

- Moe, B., Langseth, I., Fyhn, M., Gabrielsen, G. W., & Bech, C. (2002). Changes in body condition in breeding kittiwakes *Rissa tridactyla*. *Journal of Avian Biology*, *33*(3), 225-234.
- Moe, B., Stempniewicz, L., Jakubas, D., Angelier, F., Chastel, O., Dinessen, F., Gabrielsen, G. W., Hanssen, F., Karnovsky, N. J., Rønning, B., ... Bech, C. (2009). Climate change and phenological responses of two seabird species breeding in the high-Arctic. *Marine Ecology Progress Series*, *393*, 235-246.
- Montgomerie, R., & Lyon, B. E. (2020). Snow bunting (*Plectrophenax nivalis*), version 1.0. (S. M. Billerman, B. K. Keeney, P. G. Rodewald, & T. S. Schulenberg, Éds) *Birds of the World*. Ithaca, NY, USA: Cornell Lab of Ornithology.
- Moreau, R. E., & Dolp, R. M. (1970). Fat, water, weights and wing-lengths of autumn migrants in transit on the Northwest Coast of Egypt. *Ibis*, *112*(2), 209-228.
- Morrison, R. I. G. (2006). Body transformations, condition, and survival in red knots *Calidris canutus* travelling to breed at Alert, Ellesmere Island, Canada. *Ardea*, *94*(3), 607-618.
- Morrison, R. I. G., Davidson, N. C., & Piersma, T. (2005). Transformations at high latitudes: Why do red knots bring body stores to the breeding grounds? *The Condor*, *107*, 449-457.
- Morrison, R. I. G., Davidson, N. C., & Wilson, J. R. (2007). Survival of the fattest: Body stores on migration and survival in red knots *Calidris canutus islandica*. *Journal of Avian Biology*, *38*(4), 479-487.
- Morton, M. L. (1994). Hematocrits in montane sparrows in relation to reproductive schedule. *The Condor*, *96*(1), 119-126.
- Myers, J. P. (1981). A test of three hypotheses for latitudinal segregation of the sexes in wintering birds. *Canadian Journal of Zoology*, *59*(8), 1527-1534.
- Nagy, L. R., Stanculescu, D., & Holmes, R. T. (2007). Mass loss by breeding female songbirds: Food supplementation supports energetic stress hypothesis in black-throated blue warblers. *Condor*, *109*(2), 304-311.
- Newton, I. (2008). *The Migration Ecology of Birds*. Amsterdam: Academic Press, Elsevier.
- Nilsson, J. Å., & Råberg, L. (2001). The resting metabolic cost of egg laying and nestling

- feeding in great tits. *Oecologia*, 128(2), 187-192.
- Noakes, M. J., Karasov, W. H., & McKechnie, A. E. (2020). Seasonal variation in body composition in an Afrotropical passerine bird: Increases in pectoral muscle mass are, unexpectedly, associated with lower thermogenic capacity. *Journal of Comparative Physiology B*, 190(3), 371-380.
- Norberg, R. A. (1981). Temporary weight decrease in breeding birds may result in more fledged young. *The American Naturalist*, 118(6), 838-850.
- O'Connor, T. P. (1995). Metabolic characteristics and body composition in house finches: Effects of seasonal acclimatization. *Journal of Comparative Physiology B*, 165, 298-305.
- O'Connor, T. P. (1996). Geographic variation in metabolic seasonal acclimatization in house finches. *The Condor*, 98(2), 371-381.
- Paclík, M., & Weidinger, K. (2007). Microclimate of tree cavities during winter nights - Implications for roost site selection in birds. *International Journal of Biometeorology*, 51(4), 287-293.
- Pap, P. L., Vágási, C. I., Tökölyi, J., Czirják, G. Á., & Barta, Z. (2010). Variation in haematological indices and immune function during the annual cycle in the great tit *Parus major*. *Ardea*, 98(1), 105-113.
- Peig, J., & Green, A. J. (2009). New perspectives for estimating body condition from mass/length data: The scaled mass index as an alternative method. *Oikos*, 118(12), 1883-1891.
- Pennyquick, C. J. (1975). Mechanics of flight. *Avian biology*, 5, 1-73.
- Perrins, C. M. (1996). Eggs, egg formation and the timing of breeding. *Ibis*, 138(1), 2-15.
- Petit, M., Clavijo-Baquet, S., & Vézina, F. (2017). Increasing winter maximal metabolic rate improves intrawinter survival in small birds. *Physiological and Biochemical Zoology*, 90(2), 166-177.
- Petit, M., Lewden, A., & Vézina, F. (2013). Intra-seasonal flexibility in avian metabolic performance highlights the uncoupling of basal metabolic rate and thermogenic capacity. *PLoS One*, 8(6), e68292.

- Petit, M., Lewden, A., & Vézina, F. (2014). How does flexibility in body composition relate to seasonal changes in metabolic performance in a small passerine wintering at Northern latitude? *Physiological and Biochemical Zoology*, 87(4), 539-549.
- Petit, M., & Vézina, F. (2014a). Phenotype manipulations confirm the role of pectoral muscles and haematocrit in avian maximal thermogenic capacity. *The Journal of experimental biology*, 217(6), 824-830.
- Petit, M., & Vézina, F. (2014b). Reaction norms in natural conditions: How does metabolic performance respond to weather variations in a small endotherm facing cold environments? *PLoS ONE*, 9(11), 1-17.
- Piersma, T. (1987). Hop, skip, or jump? Constraints on migration of Arctic waders by feeding, fattening, and flight speed. *Limosa*, 60, 185-194.
- Piersma, T. (1990). Pre-migratory “fattening” usually involves more than the deposition of fat alone. *Ringing and Migration*, 11(2), 113-115.
- Piersma, T. (2002). When a year takes 18 months: Evidence for a strong circannual clock in a shorebird. *Naturwissenschaften*, 89(6), 278-279.
- Piersma, T. (2011). Why marathon migrants get away with high metabolic ceilings: Towards an ecology of physiological restraint. *Journal of Experimental Biology*, 214(2), 295-302.
- Piersma, T., Bruinzeel, L., Drent, R. H., Kersten, M., Van der Meer, J., & Wiersma, P. (1996). Variability in basal metabolic rate of a long-distance migrant shorebird (red knot, *Calidris canutus*) reflects shifts in organ sizes. *Physiological Zoology*, 69(1), 191-217.
- Piersma, T., Cadée, N., & Daan, S. (1995). Seasonality in basal metabolic rate and thermal conductance in a long-distance migrant shorebird, the knot (*Calidris canutus*). *Journal of Comparative Physiology B*, 165(1), 37-45.
- Piersma, T., & Drent, J. (2003). Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(5), 228-233.
- Piersma, T., Everaarts, J. M., & Jukema, J. (1996). Build-up of red blood cells in refuelling bar-tailed godwits in relation to individual migratory quality. *The Condor*, 98(2), 363-370.

- Piersma, T., Gessaman, J. A., Dekinga, A., & Visser, G. H. (2004). Gizzard and other lean mass components increase, yet basal metabolic rates decrease, when red knots *Calidris canutus* are shifted from soft to hard-shelled food. *Journal of Avian Biology*, *35*(2), 99-104.
- Piersma, T., & Gill, R. E. (1998). Guts don't fly: Small digestive organs in obese bar-tailed godwits. *The Auk*, *115*(1), 196-203.
- Piersma, T., Gudmundsson, G. A., & Lilliendahl, K. (1999). Rapid changes in the size of different functional organ and muscle groups during refueling in a long-distance migrating shorebird. *Physiological and Biochemical Zoology*, *72*(4), 405-415.
- Piersma, T., Koolhaas, A., Dekinga, A., & Gwinner, E. (2000). Red blood cell and white blood cell counts in sandpipers (*Philomachus pugnax*, *Calidris canutus*): Effects of captivity, season, nutritional status, and frequent bleedings. *Canadian Journal of Zoology*, *78*(8), 1349-1355.
- Piersma, T., & Lindström, Å. (1997). Rapid reversible changes in organ size as a component of adaptative behaviour. *Trends in Ecology & Evolution*, *12*(4), 134-138.
- Piersma, T., Mendes, L., Hennekens, J., Ratiarison, S., Groenewold, S., & Jukema, J. (2001). Breeding plumage honestly signals likelihood of tapeworm infestation in females of a long-distance migrating shorebird, the bar-tailed godwit. *Zoology*, *104*(1), 41-48.
- Piersma, T., & van Gils, J. A. (2011). *The flexible phenotype: A body-centred integration of ecology, physiology, and behaviour*. Oxford: University Press.
- Pigliucci, M. (2005). Evolution of phenotypic plasticity: Where are we going now? *Trends in Ecology and Evolution*, *20*(9), 481-486.
- Pohl, H. (1971). Seasonal variations in metabolic functions of bramblings. *Ibis*, *113*(2), 185-193.
- Pohl, H., & West, G. C. (1973). Daily and seasonal variation in metabolic response to cold during rest and exercise in the common redpoll. *Comparative Biochemistry and Physiology*, *45*(3), 851-867.
- Rae, R., & Marquiss, M. (1989). Ageing and sexing of snow buntings wintering on the aberdeenshire coast, their biometrics and sex ratio. *Ringing and Migration*, *10*(3), 133-140.



- Raess, M., & Gwinner, E. (2005). Gonadal status upon spring arrival in long-distance and short-distance migrating stonechats (*Saxicola torquata*). *Journal of Ornithology*, *146*(4), 325-331.
- Rakhimberdiev, E., Duijns, S., Karagicheva, J., Camphuysen, C. J., Castricum, V. R. S., Dekinga, A., Dekker, R., Gavrilov, A., Horn, J., Jukema, J., ... Piersma, T. (2018). Fuelling conditions at staging sites can mitigate Arctic warming effects in a migratory bird. *Nature communications*, *9*(4263), 1-10.
- Ramenofsky, M., Agatsuma, R., Barga, M., Cameron, R., Harm, J., Landys, M. M., & Ramfar, T. (2003). Migratory behavior: new insights from captive studies. Dans G. E. (eds) Berthold P (Éd.), *Avian migration* (pp. 97-111). New-York: Springer, Berlin Heidelberg.
- Ramenofsky, M., Priester, C., Koopman, H., Gay, D., & Dillaman, R. (2017). Biochemical and ultrastructural adaptations of avian flight muscle for long distance migration and arrival on the breeding grounds. *Integrative and Comparative Biology*, *57*(1), e382.
- Ramenofsky, M., & Wingfield, J. C. (2006). Behavioral and physiological conflicts in migrants: The transition between migration and breeding. *Journal of Ornithology*, *147*(2), 135-145.
- Ramenofsky, M., & Wingfield, J. C. (2017). Regulation of complex behavioural transitions: Migration to breeding. *Animal Behaviour*, *124*, 299-306.
- Randall, D. J., Burggren, W., & French, K. (2004). *Eckert animal physiology : Mechanisms and adaptations*. New-York: W. H. Freeman and Company.
- Réhault-Godbert, S., & Guyot, N. (2018). Maternal reserve. Vitellogenesis and yolk proteins, birds. Dans E. Knobil & J. Neill (Éds), *Encyclopedia of reproduction* (2nd éd., pp. 278-284). New-York: Elsevier press.
- Rehder, N. B., & Bird, D. M. (1983). Annual profiles of blood packed cell volumes of captive American kestrels. *Canadian Journal of Zoology*, *61*(11), 2550-2555.
- Reinertsen, R. E. (1996). Physiological and ecological aspects of hypothermia. Dans C. Carey (Éd.), *Avian energetics and nutritional ecology* (pp. 125-157). Boston, MA: Springer US.
- Reinertsen, R. E., & Haftorn, S. (1983). Nocturnal hypothermia and metabolism in the willow

- tit *Parus montanus* at 63°N. *Journal of Comparative Physiology*, 151(2), 109-118.
- Reneerkens, J., Schmidt, N. M., Gilg, O., Hansen, J., Hansen, L. H., Moreau, J., & Piersma, T. (2016). Effects of food abundance and early clutch predation on reproductive timing in a high Arctic shorebird exposed to advancements in arthropod abundance. *Ecology and Evolution*, 6(20), 7375-7386.
- Ricklefs, R. E., Konarzewski, M., & Daan, S. (1996). The relationship between basal metabolic rate and daily energy expenditure in birds and mammals. *American Naturalist*, 147(6), 1047-1071.
- Rising, J. D., & Somers, K. M. (1989). The measurement of overall body size in birds. *The Auk*, 106(4), 666-674.
- Romero, L. M., Soma, K. K., O'Reilly, K. M., Suydam, R., & Wingfield, J. C. (1998). Hormones and territorial behavior during breeding in snow buntings (*Plectrophenax nivalis*): An arctic-breeding songbird. *Hormones and Behavior*, 33(1), 40-47.
- Rosenberg, K. V., Kennedy, J. A., Dettmers, R., Ford, R. P., & Reynolds, D. (2016). *Partners in flight landbird conservation plan, revision for Canada and continental United States*. (R. E. Bogart, Éd.). Partners in Flight Science Committee.
- Rosenmann, M., & Morrison, P. (1974). Maximum oxygen consumption and heat loss facilitation in small homeotherms by He-O<sub>2</sub>. *American Journal of Physiology*, 226(3), 490-495.
- Royer-Boutin, P., Cortés, P. A., Milbergue, M. S., Petit, M., & Vézina, F. (2015). Estimation of muscle mass by ultrasonography differs between observers and life states of models in small birds. *Physiological and Biochemical Zoology*, 88(3), 336-344.
- Ruf, T., & Geiser, F. (2015). Daily torpor and hibernation in birds and mammals. *Biological Reviews*, 90(3), 891-926.
- Saarela, S., & Heldmaier, G. (1987). Effect of photoperiod and melatonin on cold resistance, thermoregulation and shivering/nonshivering thermogenesis in Japanese quail. *Journal of Comparative Physiology B*, 157(5), 625-633.
- Saarela, S., Klapper, B., & Heldmaier, G. (1995). Daily rhythm of oxygen consumption and thermoregulatory responses in some European winter-or summer-acclimatized finches at different ambient temperatures. *Journal of Comparative Physiology B*, 165(5),

366-376.

- Salvante, K. G., Vézina, F., & Williams, T. D. (2010). Evidence for within-individual energy reallocation in cold-challenged, egg-producing birds. *Journal of Experimental Biology*, *213*(12), 1991-2000.
- Salvante, K. G., Walzem, R. L., & Williams, T. D. (2007). What comes first, the zebra finch or the egg: temperature-dependent reproductive, physiological and behavioural plasticity in egg-laying zebra finches. *Journal of Experimental Biology*, *210*(8), 1325-1334.
- Sandberg, R., & Moore, F. R. (1996). Fat stores and arrival on the breeding grounds : Reproductive consequences for passerine migrants. *Oikos*, *77*(3), 577-581.
- Schaub, M., & Jenni, L. (2000a). Body mass of six long-distance migrant passerine species along the autumn migration route migration bout without further refuelling well before the Sahara and moulted mainly in the. *Journal of Ornithology*, *141*, 441-460.
- Schaub, M., & Jenni, L. (2000b). Fuel deposition of three passerine bird species along the migration route. *Oecologia*, *122*(3), 306-317.
- Scholander, P. F., Hock, R., Walters, V., & Irving, L. (1950). Adaptation to cold in Arctic and tropical mammals and birds in relation to body temperature, insulation, and basal metabolic rate. *Biological Bulletin*, *99*(2), 259-271.
- Scholander, P. F., Hock, R., Walters, V., & Johnson, F. (1950). Heat regulation in some Arctic and tropical mammals and birds. *Biological Bulletin*, *99*(2), 237-258.
- Scholander, P. F., Walters, V., Hock, R., & Irving, L. (1950). Body insulation of some Arctic and tropical mammals and birds. *The biological bulletin*, *99*(2), 225-236.
- Schwabl, H., Farner, D. S., Zoology, S. P., Feb, J., & Feb, N. J. (1989). Endocrine and environmental control of vernal migration in male white-crowned sparrows, *Zonotrichia leucophrys gambelii*. *Physiological Zoology*, *62*(1), 1-10.
- Senar, J. C., & Pascual, J. (1997). Keel and tarsus length may provide a good predictor of avian body size. *Ardea*, *85*, 269-274.
- Serreze, M. C., & Barry, R. G. (2005). *The Arctic climate system*. New York: Cambridge University Press.

- Sharbaugh, S. M. (2001). Seasonal acclimatization to extreme climatic conditions by black-capped chickadees (*Poecile atricapilla*) in interior Alaska (64°N). *Physiological and biochemical zoology*, 74(4), 568-575.
- Silverin, B. (1981). Reproductive effort, as expressed in body and organ weights, in the pied flycatcher. *Ornis Scandinavica*, 12(2), 133-139.
- Silverin, B., Fänge, R., Viebke, P.-A., & Westin, J. (1999). Seasonal changes in mass and histology of the spleen in willow tits *Parus montanus*. *Journal of Avian Biology*, 30(3), 255-262.
- Small, T. W., Sharp, P. J., & Deviche, P. (2007). Environmental regulation of the reproductive system in a flexibly breeding Sonoran Desert bird, the rufous-winged sparrow, *Aimophila carpalis*. *Hormones and Behavior*, 51(4), 483-495.
- Smit, B., & McKechnie, A. E. (2010). Avian seasonal metabolic variation in a subtropical desert: Basal metabolic rates are lower in winter than in summer. *Functional Ecology*, 24(2), 330-339.
- Smith, P. A., Elliott, K. H., Gaston, A. J., & Gilchrist, H. G. (2010). Has early ice clearance increased predation on breeding birds by polar bears? *Polar Biology*, 33(8), 1149-1153.
- Smith, R. D. (1992). Age determination, wing-feather colour and wing-length change in snow buntings *Plectrophenax nivalis*. *Ringing and Migration*, 13(1), 43-51.
- Smith, R. D. (1994). *Snow buntings *Plectrophenax nivalis*: The behavioural ecology and site use of an itinerant flock species in the non-breeding season*. University of Glasgow.
- Smith, R. J., & Moore, F. R. (2005). Fat stores of American redstarts *Setophaga ruticilla* arriving at northerly breeding grounds. *Journal of Avian Biology*, 36(2), 117-126.
- Snell, K. R. S., Stokke, B. G., Moksnes, A., Thorup, K., & Fossoy, F. (2018). From Svalbard to Siberia: Passerines breeding in the High Arctic also endure the extreme cold of the Western steppe. *PLoS One*, 13(9), e0202114.
- Stager, M., Swanson, D. L., & Cheviron, Z. A. (2015). Regulatory mechanisms of metabolic flexibility in the dark-eyed junco (*Junco hyemalis*). *Journal of Experimental Biology*, 218(5), 767-777.
- Swanson, D. L. (1990a). Seasonal variation in cold hardiness and peak rates of cold-induced

- thermogenesis in the dark-eyed junco (*Junco hyemalis*). *The Auk*, 107(3), 561-566.
- Swanson, D. L. (1990b). Seasonal variation of vascular oxygen transport in the dark-eyed junco. *The Condor*, 92(1), 62-66.
- Swanson, D. L. (1991a). Seasonal adjustments in metabolism and insulation in the dark-eyed junco. *The Condor*, 93(3), 538-545.
- Swanson, D. L. (1991b). Substrate metabolism under cold stress in seasonally acclimatized dark-eyed juncos. *Physiological zoology*, 64(6), 1578-1592.
- Swanson, D. L. (1995). Seasonal variation in thermogenic capacity of migratory warbling vireos. *The Auk*, 112(4), 870-877.
- Swanson, D. L. (2001). Are summit metabolism and thermogenic endurance correlated in winter-acclimatized passerine birds? *Journal of Comparative Physiology B*, 171(6), 475-481.
- Swanson, D. L. (2010). Seasonal metabolic variation in birds: functional and mechanistic correlates. Dans C. F. Thompson (Éd.), *Current Ornithology* (Vol. 17, pp. 75-129). New-York: Springer-Verlag.
- Swanson, D. L., & Dean, K. L. (1999). Migration-induced variation in thermogenic capacity in migratory passerines. *Journal of Avian Biology*, 30(3), 245-254.
- Swanson, D. L., Drymalski, M. W., & Brown, J. R. (1996). Sliding vs static cold exposure and the measurement of summit metabolism in birds. *Journal of Thermal Biology*, 21(4), 221-226.
- Swanson, D. L., & Garland, T. (2009). The evolution of high summit metabolism and cold tolerance in birds and its impact on present-day distributions. *Evolution*, 63(1), 184-194.
- Swanson, D. L., King, M. O., Culver, W. I., & Zhang, Y. (2017). Within-winter flexibility in muscle masses, myostatin, and cellular aerobic metabolic intensity in passerine birds. *Physiological and Biochemical Zoology*, 90(2), 210-222.
- Swanson, D. L., King, M. O., & Harmon, E. (2014). Seasonal variation in pectoralis muscle and heart myostatin and tolloid-like proteinases in small birds: A regulatory role for seasonal phenotypic flexibility? *Journal of Comparative Physiology B*, 184, 249-258.

- Swanson, D. L., & Liknes, E. T. (2006). A comparative analysis of thermogenic capacity and cold tolerance in small birds. *Journal of Experimental Biology*, 209(3), 466-474.
- Swanson, D. L., McKechnie, A. E., & Vézina, F. (2017). How low can you go? An adaptive energetic framework for interpreting basal metabolic rate variation in endotherms. *Journal of Comparative Physiology B*, 187(8), 1039-1056.
- Swanson, D. L., & Merkord, C. (2012). Seasonal phenotypic flexibility of flight muscle size in small birds: A comparison of ultrasonography and tissue mass measurements. *Journal of Ornithology*, 154(1), 119-127.
- Swanson, D. L., & Olmstead, K. L. (1999). Evidence for a proximate influence of winter temperature on metabolism in passerine birds. *Physiological and Biochemical Zoology*, 72(5), 566-575.
- Swanson, D. L., Thomas, N. E., Liknes, E. T., & Cooper, S. J. (2012). Intraspecific correlations of basal and maximal metabolic rates in birds and the aerobic capacity model for the evolution of endothermy. *PLoS ONE*, 7(3), 1-9.
- Swanson, D. L., & Vézina, F. (2015). Environmental, ecological and mechanistic drivers of avian seasonal metabolic flexibility in response to cold winters. *Journal of Ornithology*, 156(S1), 377-388.
- Swanson, D. L., Zhang, Y., & King, M. O. (2013). Individual variation in thermogenic capacity is correlated with flight muscle size but not cellular metabolic capacity in American goldfinches (*Spinus tristis*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 86(4), 421-431.
- Swanson, D. L., Zhang, Y., Liu, J.-S., Merkord, C., & King, M. O. (2014). Relative roles of temperature and photoperiod as drivers of metabolic flexibility in dark-eyed juncos. *Journal of Experimental Biology*, 217(6), 866-875.
- Tinbergen, N. (1939). *The behavior of the snow bunting in spring*. New-York: Linnaean society.
- Tome, M. (1991). Diurnal activity budget of female ruddy ducks breeding in Manitoba. *The Wilson Bulletin*, 103(2), 183-189.
- Utter, J. M., & LeFebvre, E. A. (1970). Energy expenditure for free flight by the purple martin (*Progne subis*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 35, 713-719.

- Vaillancourt, E., Prud'Homme, S., Haman, F., Guglielmo, C. G., & Weber, J.-M. (2005). Energetics of a long-distance migrant shorebird (*Philomachus pugnax*) during cold exposure and running. *Journal of Experimental Biology*, 208(2), 317-325.
- van Gils, J. A., Lisovski, S., Lok, T., Maissner, W., Ożarowska, A., de Fouw, J., Rakhimberdiev, E., Soloviev, M., Piersma, T., & Klaassen, M. (2016). Body shrinkage due to Arctic warming reduces red knot fitness in tropical wintering range. *Science*, 352(6287), 819-821.
- Vézina, F., Cornelius Ruhs, E., O'Connor, E. S., Le Pogam, A., Régimbald, L., Love, O. P., & Jimenez, A. G. (2020). Consequences of being phenotypically mismatched with the environment: Rapid muscle ultrastructural changes in cold-shocked black-capped chickadees (*Poecile atricapillus*). *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 318(2), R274-R283.
- Vézina, F., Dekinga, A., & Piersma, T. (2011). Shorebirds' seasonal adjustments in thermogenic capacity are reflected by changes in body mass: how preprogrammed and instantaneous acclimation work together. *Integrative and Comparative Biology*, 51(3), 394-408.
- Vézina, F., Gerson, A. R., Guglielmo, C. G., & Piersma, T. (2017). The performing animal: Causes and consequences of body remodeling and metabolic adjustments in red knots facing contrasting thermal environments. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 313(2), R120-R131.
- Vézina, F., Jalvingh, K. M., Dekinga, A., & Piersma, T. (2006). Acclimation to different thermal conditions in a northerly wintering shorebird is driven by body mass-related changes in organ size. *Journal of Experimental Biology*, 209(16), 3141-3154.
- Vézina, F., Jalvingh, K. M., Dekinga, A., & Piersma, T. (2007). Thermogenic side effects in shorebirds. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(3), R1287-R1297.
- Vézina, F., & Salvante, K. G. (2010). Behavioral and physiological flexibility are used by birds to manage energy and support investment in the early stages of reproduction. *Current Zoology*, 56(6), 767-792.
- Vézina, F., Speakman, J. R., & Williams, T. D. (2006). Individually-variable energy management strategies in relation to energetic costs of egg production. *Ecology*, 87(10), 2447-2458.

- Vézina, F., & Williams, T. D. (2002). Metabolic costs of egg production in the European starling (*Sturnus vulgaris*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 75(4), 377-385.
- Vézina, F., & Williams, T. D. (2003). Plasticity in body composition in breeding birds: What drives the metabolic costs of egg production? *Physiological and Biochemical Zoology*, 76(5), 716-730.
- Vézina, F., & Williams, T. D. (2005a). Interaction between organ mass and citrate synthase activity as an indicator of tissue maximal oxidative capacity in breeding European starlings: Implications for metabolic rate and organ mass relationships. *Functional Ecology*, 19(1), 119-128.
- Vézina, F., & Williams, T. D. (2005b). The metabolic cost of egg production is repeatable. *Journal of Experimental Biology*, 208(13), 2533-2538.
- Vézina, F., Williams, T. D., Piersma, T., & Morrison, R. I. G. (2012). Phenotypic compromises in a long-distance migrant during the transition from migration to reproduction in the High Arctic. *Functional Ecology*, 26(2), 500-512.
- Vincent, J., & Bédard, J. (1976). Fat reserves in snow buntings. *Canadian Journal of Zoology*, 54(7), 1051-1063.
- Viscor, G., Marqués, M. S., & Palomeque, J. (1985). Cardiovascular and organ weight adaptations as related to flight activity in birds. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Physiology*, 82(3), 597-599.
- Wagner, E. C., Prevorsek, J. S., Wynne-Edwards, K. E., & Williams, T. D. (2008). Hematological changes associated with egg production: Estrogen dependence and repeatability. *Journal of Experimental Biology*, 211(3), 400-408.
- Walsberg, G. E. (1986). Thermal consequences of roost-site selection: The relative importance of three modes of heat conservation. *The Auk*, 103(1), 1-7.
- Walsberg, G. E., & King, J. R. (1978). The relationship of the external surface area of birds to skin surface area and body mass. *Journal of Experimental Biology*, 76(1), 185-189.
- Walsh, J. E., Shapiro, I., & Shy, T. L. (2005). On the variability and predictability of daily temperatures in the Arctic. *Atmosphere - Ocean*, 43(3), 213-230.
- Weathers, W. W., & Sullivan, K. A. (1993). Seasonal patterns of time and energy allocation



- by birds. *Physiological Zoology*, 66(4), 511-536.
- Webb, D. R., & Rogers, C. M. (1988). Nocturnal energy expenditure of dark-eyed juncos roosting in Indiana during winter. *The Condor*, 90(1), 107-112.
- Webster, M. D., & Weathers, W. W. (1990). Heat produced as a by-product of foraging activity contributes to thermoregulation by verdins, *Auriparus flaviceps*. *Physiological Zoology*, 63(4), 777-794.
- Weiner, J. (1992). Physiological limits to energy budgets sustainable in birds and mammals : Ecological implications. *Trends in Ecology & Evolution*, 7(11), 384-388.
- Whelan, S., Strickland, D., Morand-Ferron, J., & Norris, D. R. (2016). Male experience buffers female laying date plasticity in a winter-breeding, food-storing passerine. *Animal Behaviour*, 121, 61-70.
- White, C. M., & West, G. C. (1977). The annual lipid cycle and feeding behavior of Alaskan redpolls. *Oecologia*, 27(3), 227-238.
- White, C. R., & Kearney, M. R. (2013). Determinants of inter-specific variation in basal metabolic rate. *Journal of Comparative Physiology B*, 183(1), 1-26.
- Wiersma, P., Chappell, M. A., & Williams, J. B. (2007). Cold- and exercise-induced peak metabolic rates in tropical birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(52), 20866-20871.
- Wikelski, M., Hau, M., Robinson, W. D., & Wingfield, J. C. (2003). Reproductive seasonality of seven neotropical passerine species. *Condor*, 105(4), 683-695.
- Wikelski, M., Kays, R. W., Kasdin, N. J., Thorup, K., Smith, J. A., & Swenson, G. W. (2007). Going wild: What a global small-animal tracking system could do for experimental biologists. *Journal of Experimental Biology*, 210(2), 181-186.
- Williams, T. D. (2012). *Physiological adaptations for breeding in birds*. Princeton, NJ: Princeton University press.
- Williams, T. D. (2018). Avian reproduction - Overview (wild birds). Dans E. Knobil & J. . Neill (Éds), *Encyclopedia of reproduction* (2nd éd., pp. 595-601). New-York: Elsevier press.

- Williams, T. D., & Ames, C. E. (2004). Top-down regression of the avian oviduct during late oviposition in a small passerine bird. *Journal of Experimental Biology*, 207(2), 263-268.
- Williams, T. D., Challenger, W. O., Christians, J. K., Evanson, M., Love, O. P., & Vezina, F. (2004). What causes the decrease in haematocrit during egg production? *Functional Ecology*, 18(3), 330-336.
- Williams, T. D., Fronstin, R. B., Otomo, A., & Wagner, E. (2012). Validation of the use of phenylhydrazine hydrochloride (PHZ) for experimental manipulation of haematocrit and plasma haemoglobin in birds. *Ibis*, 154(1), 21-29.
- Williams, T. D., & Martyniuk, C. J. (2000). Tissue mass dynamics during egg-production in female zebra finches *Taeniopygia guttata*: Dietary and hormonal manipulations. *Journal of Avian Biology*, 31(1), 87-95.
- Williams, T. D., & Ternan, S. P. (1999). Food intake, locomotor activity, and egg laying in zebra finches: Contributions to reproductive energy demand? *Physiological and Biochemical Zoology*, 72(1), 19-27.
- Williams, T. D., Vézina, F., & Speakman, J. R. (2009). Individually variable energy management during egg production is repeatable across breeding attempts. *Journal of Experimental Biology*, 212(8), 1101-1105.
- Willmer, P., Stone, G., & Johnston, I. (2005). *Environmental physiology of animals* (2nd edition). Massachusetts, USA: Blackwell Science Ltd.
- Wilson, R. S., & Franklin, C. E. (2002). Testing the beneficial acclimation hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution*, 17(2), 66-70.
- Wingfield, J. C., & Farner, D. S. (1978). The Endocrinology of a natural breeding population of the white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys pugetensis*). *Physiological Zoology*, 51(2), 188-205.
- Wingfield, J. C., & Hunt, K. E. (2002). Arctic spring : Hormone – behavior interactions in a severe environment. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 132(1), 275-286.
- Wingfield, J. C., Jacobs, J. D., Tramontin, A. ., Perfito, N., Meddle, S., Maney, D., & Soma, K. K. (1999). Toward an ecological basis of hormone-behavior interactions in reproduction of birds. Dans K. Wallen & J. E. Schneider (Éds), *Reproduction in context*

(pp. 85-128). Cambridge: MIT press.

- Wingfield, J. C., Kelley, J. P., & Angelier, F. (2011). What are extreme environmental conditions and how do organisms cope with them? *Current Zoology*, *57*(3), 363-374.
- Wingfield, J. C., Owen-Ashley, N., Benowitz-Fredericks, Z., Lynn, S. E., Hahn, T., Wada, H., Breuner, C., Meddle, S., & Romero, L. (2004). Arctic spring: The arrival biology of migrant birds. *Acta Zoologica Sinica*, *50*(6), 948–960.
- Wingfield, J. C., Patrick Kelley, J., Angelier, F., Chastel, O., Lei, F., Lynn, S. E., Miner, B., Davis, J. E., Li, D., & Wang, G. (2011). Organism-environment interactions in a changing world: A mechanistic approach. *Journal of Ornithology*, *152*(Suppl 1), S279-S288.
- Witter, M. S., & Cuthill, I. C. (1993). The ecological costs of avian fat storage. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, *340*(1291), 73-92.
- Yesou, P. (1998). Afflux de Bruant des neiges *Plectrophenax nivalis* en France (sept. 1996 - mai 1997). *Ornithos*, *5*(54), 180-187.
- Zhang, Y., Eyster, K., Liu, J.-S., & Swanson, D. L. (2015). Cross-training in birds: Cold and exercise training produce similar changes in maximal metabolic output, muscle masses and myostatin expression in house sparrows (*Passer domesticus*). *Journal of Experimental Biology*, *218*(14), 2190-2200.
- Zhang, Y., Yap, K. N., Williams, T. D., & Swanson, D. L. (2018). Experimental increases in foraging costs affect pectoralis muscle mass and myostatin expression in female, but not male, zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Physiological and Biochemical Zoology*, *91*(3), 849-858.
- Zheng, W.-H., Li, M., Liu, J.-S., & Shao, S.-L. (2008). Seasonal acclimatization of metabolism in Eurasian tree sparrows (*Passer montanus*). *Comparative Biochemistry and Physiology A*, *151*(4), 519-525.