



KATHOLIEKE UNIVERSITEIT
LEUVEN

FACULTEIT WETENSCHAPPEN

Departement Biologie

Laboratorium voor Aquatische Ecologie en Evolutiebiologie

De Interactie tussen Predator en Prooi in een Opwarmend Klimaat: een Ongelijke Strijd?



door

Maarten VAN DEN BROECK

Promotor: Prof. dr. Robby Stoks

Co-promotoren:

dr. Marjan De Block

dr. Kevin Pauwels

Proefschrift ingediend tot het
behalen van de graad van

Master in de Biologie

Academiejaar 2010-2011

DANKWOORD

Ik moet toegeven, dit werk is niet alleen door mezelf tot stand gekomen. Daarom heel graag een woordje van dank voor de mensen die me het voorbije jaar hebben bijgestaan:

Mijn promotor Robby Stoks en co-promotor Marjan De Block: dank jullie wel voor jullie inspiratie en inzicht in de wondere wereld van de waterjuffers, het nakijken van deze scriptie en het helpen bij de discussie;

Mijn co-promotor en begeleider Kevin Pauwels: dankjewel voor je vele tijd bij het uitvoeren van de experimenten, de suggesties die je gaf op dit werk en de voorstellen die je deed om nog net dat ietsje dieper in te gaan op de resultaten;

Bram Vanhumbecq en Cathy Duvivier: dank jullie wel om me te helpen met het klaarzetten en het uitvoeren van de experimenten;

De technische staf van het labo: dank jullie wel voor de tips en uitleg bij de praktische uitvoering van de allozymexperimenten;

Mijn ouders, familie en vrienden: dank jullie wel voor jullie steun, niet alleen tijdens het maken van dit proefschrift, maar ook daarbuiten;

Mijn vriendin Kristin Van Asch: dankjewel om steeds klaar te staan met oplossingen, goede raad en het nalezen van deze masterthesis.

Dank jullie wel, allemaal!

En ten slotte hoop ik dat u, beste lezer, even geboeid raakt als ikzelf door de onderwerpen die aan bod komen!

Maarten

© Copyright by K.U.Leuven

Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van zowel de promotor(en) als de auteur(s) is overnemen, kopiëren, gebruiken of realiseren van deze uitgave of gedeelten ervan verboden. Voor aanvragen tot of informatie i.v.m. het overnemen en/of gebruik en/of realisatie van gedeelten uit deze publicatie, wend u tot de K.U.Leuven, Faculteit Wetenschappen, Geel Huis, Kasteelpark Arenberg 11, 3001 Leuven (Heverlee), Telefoon +32 16 32 14 01.

Voorafgaande schriftelijke toestemming van de promotor(en) is eveneens vereist voor het aanwenden van de in dit afstudeerwerk beschreven (originele) methoden, producten, schakelingen en programma's voor industrieel of commercieel nut en voor de inzending van deze publicatie ter deelname aan wetenschappelijke prijzen of wedstrijden.

INHOUD

Dankwoord	i
Inhoud.....	ii
1 Inleiding	1
1.1 Global change	1
1.1.1. Aanpassen.....	3
1.1.2. Migreren	4
1.1.3. Uitsterven	5
1.2. Global Change in aquatische systemen	5
1.2.1. Trofische interacties: predator – prooi	6
1.2.2. Modelorganismen	9
1.2.3. Predator-prooi interacties in een opwarmend klimaat	12
1.3. Consumptieve en niet-consumptieve effecten van predator op prooi.....	13
1.4. Hypothesen.....	14
2. Materiaal en methoden.....	15
2.1. De verschillende latituden	15
2.2. Het model: predator – prooi.....	15
2.2.1. De waterjuffers - predator	15
2.2.2. De watervlooien - prooi.....	17
2.3. De experimentele set-up	19
2.3.1. De experimenten	19
2.3.2. De allozym-electroforese	20
2.4. Statistische analyses	22
3. Resultaten.....	23
3.1. Algemene resultaten.....	23

3.2.	Foerageersucces juffers: temperatuur- en latitude-effect	25
3.3.	Fitness <i>Daphnia</i> – temperatuur- en latitude-effect	27
4.	Discussie	28
4.1.	Foerageersucces juffers: temperatuur- en latitude-effect	29
4.2.	Fitness <i>Daphnia</i> – temperatuur- en latitude-effect	30
4.3.	Conclusie	32
5a.	Samenvatting	34
5b.	Summary	35
	Bibliografie	36
	Addendum	43

1 INLEIDING

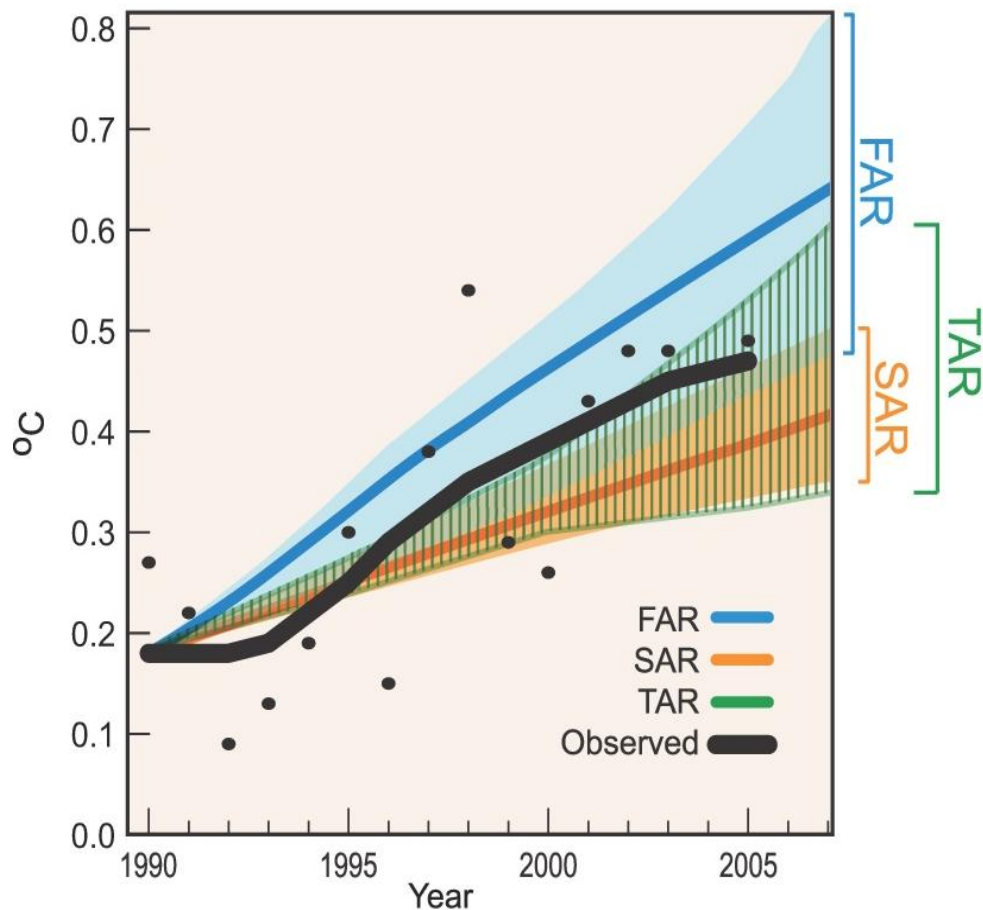
1.1 GLOBAL CHANGE

Meer frequente overstromingen (Hall et al., 2006, Brouwers, 2010, Lau et al., 2010), droogtes (Pearson, 2006, Strzepek et al., 2010), migraties van soorten (Hickling et al., 2005, Hickling et al., 2006), ecosysteemverschuivingen (Lawrence et al., 2007, Daufresne et al., 2009), verlies aan biodiversiteit (Clark and McLachlan, 2003, Spray and McGlothlin, 2003), verspreidingen van ziektes (McGregor-Lowndes and Scaife, 2008, Pinto et al., 2008) ... de lijst gaat nog even door. Global change wordt in verband gebracht met deze fenomenen en kent een groeiende interesse vanuit vele domeinen in de wetenschap (McMichael, 2004): natuurbehoud en -beheer, populatiegenetica, gemeenschapsecologie, biodiversiteit, ... maar ook vanuit de economie (Rees, 2003, Pimentel et al., 2005, McGregor et al., 2009) neemt de belangstelling toe en in de medische wereld duiken ziekten op die voordien enkel elders voorkwamen (Acuna-Soto et al., 2005, Blashki et al., 2007).

Over wat de precieze oorzaak is van deze veranderingen, bestaan verschillende meningen. De meeste studies zoeken en vinden de oorzaak bij de massale menselijke aangroei en de daardoor verhoogde graad van uitstoot van broeikasgassen (CO_2 , CH_4), een gewijzigde N-cyclus en drastische veranderingen betreffende land- en watergebruik (Vitousek, 1994). Steeds meer komt het besef van de sterke menselijke invloed op het klimaat en haar veranderingen (Palumbi, 2001), en de noodzaak naar duurzame oplossingen om verdere uitstoot te verminderen.

Wat vast staat, is dat deze veranderingen reëel zijn. Of deze nu te wijten zijn aan een meer intensieve uitstoot van broeikasgassen door de mens of niet, wij en alle levende organismen moeten wel met deze veranderingen omgaan. Alles op deze planeet is immers onderhevig aan de verandering van het klimaat en dit heeft gevolgen. In Daufresne et al. (2009) worden drie universele ecologische gevolgen beschreven met betrekking tot de klimaatopwarming. (i) Het migreren van soorten naar hogere latituden, noord- of zuidwaarts, omdat op deze latituden de gemiddelde temperatuur lager is dan naar de equator toe. Ook migreren naar hogere altituden binnen eenzelfde latitude is mogelijk omwille van de lagere temperaturen op grotere hoogtes. (ii) Het vinden van kleinere organismen van eenzelfde genus bij warmere omgevingen, de zogenaamde *regel van Bergmann*, voornamelijk bij endotherme (warmbloedige) dieren (zoogdieren en vogels), maar ook bij ectotherme (koudbloedige) dieren. (iii) Seizoensale shifts. Hiermee worden de invloeden bedoeld van global change op de lengte van de levensstadia bij organismen, waardoor hun levenscyclus niet meer gecorreleerd blijft aan de seizoenen. De duur van de seizoenen wordt immers bepaald door de stand van

de zon, en zal dus niet veranderen door global change. De klimaatsverandering zal echter wel een invloed hebben op de temperaturen van de seizoenen, waardoor het voorjaar warmer kan worden en zogenaamd vroeger kan beginnen. Een voorbeeld van vervroegde en warmere lenten en het verband met bosbranden in West-Amerika wordt beschreven in Westerling et al. (2006).



Figuur 1: Globale verschil in oppervlaktetemperatuur gedurende de periode van 1990 tot 2005, in vergelijking met de gemiddelde waarden van 1961 tot 1990. De best geschatte waarden worden weergegeven in de volle gekleurde lijnen voor FAR (First Assessment Report, 1990) en SAR (Second Assessment Report, 1996). Schattingsmarges zijn in het gearceerd aangeduid. Voor TAR (Third Assessment Report, 2001) zijn enkel schattingsmarges beschikbaar. De zwarte volle lijn is gebaseerd op gemiddelde jaarlijkse waarnemingen, weergegeven door de zwarte punten (Brohan et al., 2006).

Het *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC, Fourth Assessment Report) stelde in 2007 een stijging vast in globale oppervlaktetemperatuur van 0.74 ± 0.18 °C gedurende de periode 1906-2005 (Figuur 1). Nog meer temperatuurstijgingen worden voorspeld voor de komende eeuw, waarbij sommige voorspellingen reiken tot een stijging van tussen 1.1°C en 6.4°C (Pachauri and Reisinger, 2007). Voor heel veel organismen betekent dit rechtstreeks of onrechtstreeks een drastische verandering in hun levenswijze. Er blijven hen dan ook maar drie mogelijkheden: zich aanpassen aan hun veranderende omgeving, migreren naar hogere latituden of altituden, of sterven indien de organismen zich niet kunnen aanpassen of kunnen migreren.

1.1.1. AANPASSEN

Lokale adaptatie aan global change is mogelijk op twee niveaus: (i) door middel van niet-genetische veranderingen (fenotypische plasticiteit), wat toelaat om te gaan met lokale omgevingsveranderingen. Fenotypische plasticiteit is het vermogen dat een organisme toelaat om zijn fysiologische, gedrags-, ontwikkelings- of morfologische eigenschappen te veranderen, onder invloed van een veranderende omgeving. Voor veel organismen die niet snel genoeg kunnen migreren om aan de klimaatsverandering te ontsnappen, zal fenotypische plasticiteit op korte termijn een oplossing kunnen bieden (Angilletta, 2009). Soorten die een kleine temperatuursmarge hebben (*temperatuurspecialisten*), zullen dus het meest benadeeld worden door een temperatuurstijging. Soorten met een bredere temperatuursmarge (*temperatuurgeneralisten*) zullen echter baat hebben bij warmere temperaturen, omdat deze organismen momenteel onder hun thermale optima leven (Angilletta, 2009). Dergelijke hypothesen worden ook besproken voor Odonata (libellen en waterjuffers), zie Hassal and Thompson (2008).

Een tweede mogelijkheid is (ii) door middel van genetische veranderingen (micro-evolutionaire respons). Dit betekent dat een organisme door middel van genetische veranderingen zich zal kunnen aanpassen aan lokale veranderingen. Een voorbeeld bij *Drosophila* wordt beschreven in Rodríguez-Trelles and Rodríguez (1998), waaruit blijkt dat in de bestudeerde populaties, gedurende een periode van 16 jaar, een snelle micro-evolutie onder invloed van de klimaatsverandering is gebeurd, vastgesteld door het vergelijken van de chromosomale diversiteit, die met 18,3% is gedaald om genetische adaptatie te ondergaan. Verder worden in heel wat studies beschrijvingen gedaan van de gewijzigde timing van seizoenale gebeurtenissen en lengte van levensstadia (de fenologie van een organisme) bij verschillende soorten door dergelijke genetische adaptatie onder invloed van klimaatsverandering. Een studie van Both et al. (2009) beschrijft bijvoorbeeld een shift in fenologie over vier niveaus van een voedselketen heen (knoppen van eiken, rupsen, zangvogels en sperwers), gedurende

een periode van 20 jaar. Daaruit bleek dat de tijdstippen waarop de rupsen hun piekbiomassa bereikten en de zangvogels hun eieren uitbroedden, significant vervroegd waren, als gevolg van genetische selectie onder invloed van global change.

Populaties kunnen dus strategieën ontwikkelen om met temperatuursveranderingen om te gaan en zo lokaal te overleven (Parmesan, 2006). De soortenveranderingen kunnen zowel ecologisch als evolutionair zijn en deze worden recent steeds gelinkt met elkaar. Ze hoeven dan ook niet in tijd van elkaar gescheiden te worden; integendeel, beide kunnen op korte termijn gebeuren (Pelletier et al., 2009). Daarom is het belangrijk om, in een veranderend en opwarmend milieu, beide factoren in rekening te brengen (Harmon et al., 2009).

1.1.2. MIGREREN

Een aannemelijk gevolg voor een soort in een veranderende leefomgeving, zijn migratieshifts naar latituden of altituden waarin organismen beter zijn aangepast. Dit is echter niet altijd mogelijk: dispersie is beperkt in tijd en afstand (Leibold et al., 2004, McLachlan et al., 2007). Bovendien is de dispersiecapaciteit extra gelimiteerd door habitatfragmentatie (Wilson et al., 2009), met extincties tot gevolg.

Klimaatopwarming kan ook zorgen voor een niet gelijke verschuiving van soorten naar verschillende latituden, waardoor *mismatches* in hun ecologie ontstaan. Een voorbeeld hiervan vinden we in Winder and Schindler (2004): de steeds warmer wordende lentes hebben een negatieve impact op de interactie tussen zoöplankton en fytoplankton in het Washingtonmeer, omwille van de verschillende gevoeligheid voor voorjaarstemperaturen. Zowel de bloei van diatomeeën als de thermische stratificatie zijn sinds 1962 met meer dan 20 dagen vervroegd. De hieraan gekoppelde afname van *Daphnia*-populaties kan daardoor grote gevolgen hebben voor de nutriëntenflow naar hogere trofische niveaus.

Wanneer immigrerende soorten zich settelen in nieuwe habitats, kan soms een competitief voordeel ontstaan in vergelijking met de lokale populaties. Een noordwaartse migratieshift van 37 Britse soorten waterjuffers over een tijdsspanne van 40 jaar wordt beschreven in Hickling et al. (2005). Ook in andere organismen worden gelijkaardige waarnemingen gedaan, zie Parmesan et al. (1999) voor een studie over 35 soorten Europese vlinders, waarvan 63% tussen de 35 km en de 240 km naar het noorden verschoven is gedurende de laatste 100 jaar.

1.1.3. UITSTERVEN

Indien een organisme zich niet kan aanpassen of kan migreren, zal een sterk veranderende omgeving extinctions veroorzaken. Het hieraan gekoppelde biodiversiteitsverlies vindt dan ook voor een groot deel zijn oorzaak in de klimaatsverandering (Spray and McGlothlin, 2003), met verschillende gevolgen voor biodiversiteitsbeheer (Heller and Zavaleta, 2009). Zoetwatersystemen zijn volgens de IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) Rode Lijst van Bedreigde Diersoorten het meest bedreigd, waardoor deze fragiele aquatische systemen die onder sterke invloed staan van klimaatsveranderingen, onder grote druk komen te staan. Hierbij zal global change het aantal geschikte habitats reduceren (Thomas et al., 2004), waardoor de meeste extinctions te wijten zullen zijn aan habitatverlies.

Extinctie van soorten kan te wijten zijn aan rechtstreekse en onrechtstreekse oorzaken van klimaatsveranderingen (Thomas et al., 2004, Lister and Stuart, 2008). De invloeden zijn rechtstreeks als de omgeving te drastisch verandert op een te korte tijdsspanne, waardoor het organisme zich niet kan aanpassen of migreren, bijvoorbeeld door het afsmelten van de ijskappen (Smith et al., 2003), waardoor de leefomgeving van het organisme ongeschikt wordt. Onrechtstreekse oorzaken kunnen zijn (i) de verstoorde trofische cascade waarin het organisme zich bevindt, terwijl het organisme zelf geen directe last ondervindt van de klimaatsverandering. Dit kan zijn omdat de kans reëler wordt dat het organisme over te weinig voedsel beschikt (bottom-up), of dat andere, meer efficiënte predatoren, de natuurlijke vijanden verjagen en overpredatie veroorzaken (top-down). Aangezien trofische cascades vaak complexe netwerken zijn van interagerende soorten zijn deze heel gevoelig voor top-down effecten (Herendeen, 2003). (ii) De klimaatsverandering zorgt voor hogere (al dan niet intraspecifieke) concurrentie, waardoor de fitness van het organisme verlaagt. Een studie over de trekvogel *Ficedula hypoleuca* (bonte vliegenvanger) heeft aangetoond dat het aanbreken van de lente op een vroeger tijdstip in het jaar, voor hogere concurrentie om de beste nestplaatsen zorgt (Both and Visser, 2001).

1.2. GLOBAL CHANGE IN AQUATISCHE SYSTEMEN

Aquatische (zoetwater-) systemen hebben een hoge maatschappelijke waarde (ecosysteemdiensten als zuivering van grondwater, opslag in watertafels, recreatie en bescherming tegen overstromingen) en een hoge economische waarde (visserij en landbouw). Bepalen hoe deze systemen er zullen uitzien in de toekomst, is dus van groot belang, gezien hun socio-economische belang (Wu et al., 2007, Wu et al., 2010).

Zoals eerder aangehaald is alles op deze planeet onderhevig aan klimaatsverandering, zo ook aquatische systemen (Hassal and Thompson, 2008, Daufresne et al., 2009). In grote aquatische systemen zal de aanzienlijke massa water als buffer kunnen fungeren tegen temperatuursveranderingen. Echter, voor eenzelfde temperatuurstijging, zal in kleinere en tijdelijke systemen het klimaat op heel wat factoren een grotere invloed hebben (Abrahams et al., 2007, Hassal and Thompson, 2008). De belangrijkste factoren zijn turbiditeit (Abrahams and Kattenfeld, 1997), de hoeveelheid opgeloste zuurstof (Robb and Abrahams, 2003), maar in het bijzonder temperatuur (Abrahams et al., 2007). Deze eerste twee, niet onbelangrijke factoren, zullen vooral in combinatie met temperatuur de negatieve effecten versterken.

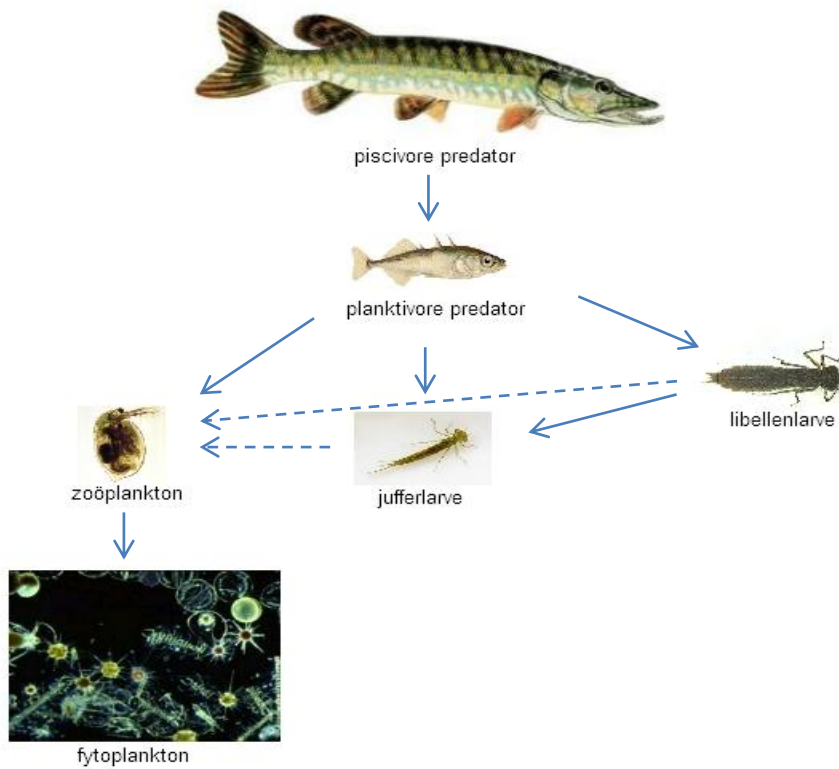
Het beperkte aantal ecologische interacties in aquatische systemen, maakt het mogelijk om de gevolgen van gemeenschapsshifts door klimaatopwarming te bestuderen (Hassal and Thompson, 2008). De meeste kleine ongewervelde, ectotherme organismen die erin leven, zijn sterk afhankelijk van hun omgeving: aangezien hun lichaamstemperatuur rechtstreeks in verhouding is met de temperatuur van het omgevende water wordt dan ook verwacht dat deze temperatuursveranderingen een drastisch effect zullen hebben (Abrahams et al., 2007). Hun oppervlakte-volume verhouding is immers zeer hoog, wat op zijn beurt een hoge warmte-overdracht met zich meebrengt (May, 1985). Zeker organismen met complexe, wisselende levensstadia, zijn sterk beïnvloedbaar. Ze passen hun lengte van bepaalde levensstadia (paring, eileg, vervellingsstadia, ...) indien mogelijk aan naargelang de temperatuursveranderingen. Gemeenschappen van bijvoorbeeld Odonatopopulaties blijken drastische gevolgen te ondervinden van temperatuurstijgingen (Flenner and Sahlén, 2008). Indien aanpassen niet mogelijk is, is migreren of zelfs uitsterven het gevolg.

1.2.1. TROFISCHE INTERACTIES: PREDATOR – PROOI

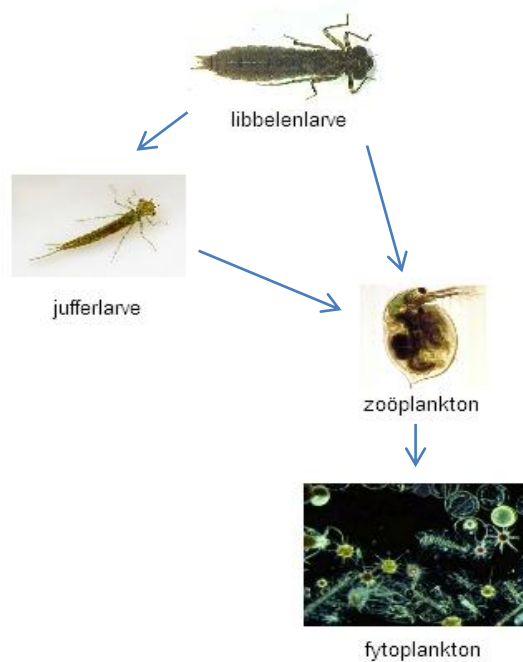
Een belangrijke schakel in aquatische systemen, zowel in de voedselketen als in de nutriëntencyclus, is zoöplankton. Doordat ze zich voornamelijk voeden met eencellige algen en zelf geliefkoosd voedsel zijn voor vissen en macro-invertebraten, vormen ze de verbinding tussen (i) de basis van de voedselpiramide (de primaire producenten, fytoplankton) en (ii) de top (de consumenten, piscivore en niet-piscivore, macro-invertebrate predatoren).

(i) Fytoplankton, voornamelijk bestaande uit eencellige algen, zijn fotosynthetiserende, autotrofe organismen en staan in voor een groot deel van de globale O₂-productie. Hun metabolisme is sterk afhankelijk van mineralen, in het bijzonder fosfaten en nitraten, maar ook van temperatuur, pH en hoeveelheid O₂ en CO₂. In systemen met hoge instroom van nutriënten (met name P en N) zal eutroficatie optreden waardoor fytoplankton rijkelijk kan floreren en enorm in biomassa zal toenemen (de zogenaamde *algal blooms*). Bovendien wordt, door de hoge dekkingsgraad van de algen, invallend zonlicht afgeschermd van de onderliggende waterlagen en planten, met nefaste gevolgen voor de aquatische fauna en flora. Dit leidt tot een cascade aan reacties, waaronder verlies van biodiversiteit, shifts in soortensamenstellingen door de veranderende verhouding in nutriënten en verhoogde toxiciteit van het water, voornamelijk door de groei van cyanobacteriën (Dunlop, 1991). Huisman et al. (2005) toonde aan dat warme zomers ideaal zijn voor schadelijke en giftige cyanobacteriën in geëutrofiëerde systemen. Daarenboven kan hypoxie optreden: overdag wordt massaal zuurstof aangemaakt door de fotosynthese van de algen, maar 's nachts zal de hoeveelheid opgeloste zuurstof enorm afnemen door respiratie en door rottingsprocessen van micro-organismen, veroorzaakt door de stijgende massa algen. Een tekort aan zuurstof kan leiden tot verstikking van aquatische fauna. In extreme gevallen kan zelfs de groei van bacteriën als *Clostridium botulinum* (botulisme) bevorderd worden, wat sterk toxisch is voor vertebraten (Haagsma, 1991). Zoöplankton graast op fytoplankton en kan zo top-down controle uitvoeren op deze organismen (Hanazato, 2001, Chattopadhyay et al., 2002).

(ii) Predatie kan bepaald worden door vissen en door andere macro-invertebraten, vaak larven van Odonata, bij afwezigheid van vispopulaties (Hassal and Thompson, 2008). In het eerste geval (Figuur 2) zal de top-down controle geregeld worden door de aanwezige vispopulaties. Macro-invertebrate organismen zullen gecontroleerd worden door de planktivore predators, die op hun beurt gecontroleerd worden door de piscivore predators. De invloed van de toppredator van het systeem, in dit geval de piscivore predator, zal dus onrechtstreeks een invloed hebben op het fytoplankton: veel piscivore predators betekent weinig planktivore predators, waardoor er minder controle is op het zoöplankton en het fytoplankton in groei geremd zal worden. De afwezigheid van zo'n toppredator kan dus leiden tot een verlaagde graasdruk van het zoöplankton op het fytoplankton, met *algal blooms* en eutroficatie van het oppervlaktewater tot gevolg (Sarnelle, 1993, Boon et al., 1994, Pires et al., 2005).



Figuur 2: Belangrijkste trofische interacties in aquatische systemen met vis. Pijlen geven de top-down controle weer (zie tekst). Streepjeslijnen betekenen een mindere mate van top-down controle, hier beperkt door de planktivore predator.



Figuur 3: Belangrijkste trofische interacties in aquatische systemen zonder vis. Pijlen geven de top-down controle weer (zie tekst).

In het tweede geval (Figuur 3), waarbij geen vissen (meer) aanwezig zijn, uitgestorven zijn of waar herkolonisatie niet mogelijk is (Xenopoulos and Lodge, 2006), zullen larven van Zygoptera (libellen) de rol van toppredator overnemen. De rol van Odonata wordt dus belangrijker dan in systemen met vis door het ontbreken van een planktivore predator. Ook op planten kunnen Odonata belangrijke gevolgen hebben, via de predatie op pollinators (Knight et al., 2005): volwassen Zygoptera kunnen azen op wolzwevers (Diptera: Bombyliidae) die de bestuiving van planten faciliteren, en zo de voortplanting van planten beïnvloeden. Op deze manier wordt duidelijk dat ecosystemen complex in elkaar zitten en dat het belangrijk is om deze systemen in hun geheel te beschouwen, te beschermen en te beheren (Hassal and Thompson, 2008).

1.2.2. MODELORGANISMEN

Als modelorganismen voor deze studie bestudeerden we de interactie tussen de waterjuffers (*Ischnura elegans* Vander Linden, 1820, Figuur 5, Figuur 4) als predator en hun prooien, watervlooien (*Daphnia magna* Straus, 1820, Figuur 7). Beide organismen zijn goed bestudeerd, juffers (Thompson, 1978, Hietala et al., 1997, Agrawal, 1998, De Block and Stoks, 2003) en *Daphnia* (Carvalho, 1987, Ebert, 2005) en zijn ook goed gekende onderzoeksorganismen in het labo.

DE PREDATOR: WATERJUFFER – *ISCHNURA ELEGANS*

De waterjuffer *Ischnura elegans* – Odonata (lantaarntje) is een algemeen voorkomende soort in Europa, met uitzondering van Spanje en eilanden in het Middellandse Zeegebied. Zijn habitat is meestal in de buurt van zoetwatervijvers, maar ook in brakwater wordt de soort waargenomen. Het is een zeer waterkwaliteitstolerante soort (i.e. dat deze in vervuild water kan overleven). Hun vliegseizoen valt tussen mei en september.



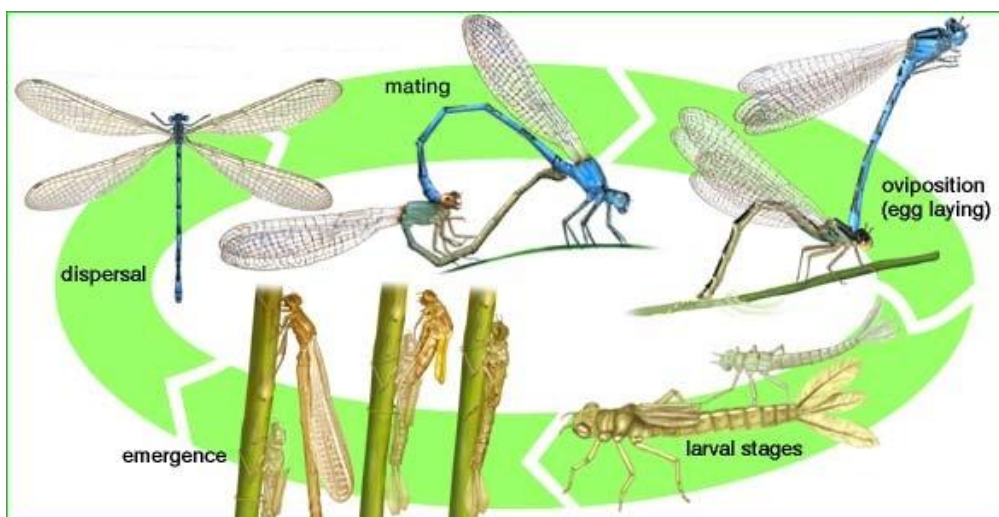
Figuur 4: *I. elegans*, adult (foto: Dries Knapen).



Figuur 5: larve van *I. elegans*, gebruikt als predator in de experimenten (foto: Dave Pressland).

Larven van waterjuffers zijn geschikte organismen om de effecten van temperatuursveranderingen te onderzoeken. Zo zullen stijgende temperaturen zorgen voor (i) een vervroegde leeftijd waarop de larven uit het ei komen, (ii) een verhoogde larvale groeisnelheid en (iii) een versnelde inname van voedsel (aangetoond in de waterjuffer *Lestes viridis*, De Block and Stoks, 2003). Lantaarntjes afkomstig van noordelijke latituden zijn univoltien, i.e. deze produceren slechts één generatie per zomer. Meer naar de equator toe, kunnen lantaarntjes bivoltien of zelfs multivoltien zijn. Zo kunnen de Franse lantaarntjes tot vier generaties per zomer produceren, wat hun hoger metabolisme in vergelijking met juffers 'Noord' en 'Midden' verklaart: juffers 'Zuid' hebben jaarlijks meer generaties omdat ze veel sneller kunnen groeien dan hun noordelijke soortgenoten (Corbet et al., 2006, Dijkstra and Lewington, 2006). De lengte van het groeiseizoen heeft ook tot gevolg dat juffers 'Noord' relatief meer energie moeten steken in massa en groei dan de juffers 'Midden': beiden zijn wel univoltien, maar het vliegseizoen in Zweden is beperkter waardoor deze laatste op een kortere tijdsspanne meer moeten eten (Shama et al., in press).

Een vereenvoudigde levenscyclus van *I. elegans*, wordt weergegeven in Figuur 6. De larvale stadia worden onderverdeeld in tien verschillende instars (vervellingsstadia), genummerd van F-10 tot F-0. De F-0 instars (laatste larvale stadium voor de metamorfose tot adult) worden gebruikt voor onze experimenten, omdat dit stadium lang in laboratoriumcondities kan gehouden worden en op deze manier de dieren gestandaardiseerd zijn.



Figuur 6: levenscyclus *I. elegans*. De larvale stadia worden onderverdeeld in verschillende instars (vervellingsstadia) (Bron: Encyclopædia Britannica Online).

Zoals aangegeven in Figuur 2 en Figuur 3, fungeren waterjufferlarven als intermediaire predatoren. Ze worden zelf gepredeerd door vissen, en leven van zoöplankton. Hun complexe levenscyclus vereist een amfibisch milieu: aquatisch voor de larven en terrestrisch voor de adulten. Tijdens de zomermaanden gebeurt de paring die enkele uren kan duren, waarbij het mannetje de thorax van het vrouwtje vastgrijpt met postabdominale aanhangsels. Veldstudies tonen aan dat vrouwtjes sommige mannetjes verkiezen boven andere, op basis van de vorm van deze aanhangsels (Robertson and Paterson, 1982). Vervolgens zal het vrouwtje, indien zij dat wil, haar abdomen naar voren buigen om een paringswiel te vormen, waarna paring plaatsvindt. Bij het leggen van de eitjes gebeurt de eigenlijke bevruchting en worden deze gelegd op de bladeren van waterplanten, dicht bij de waterkant. Na twee tot drie weken komen de eitjes uit en zullen de larven aan hun vervellingsstadia beginnen.

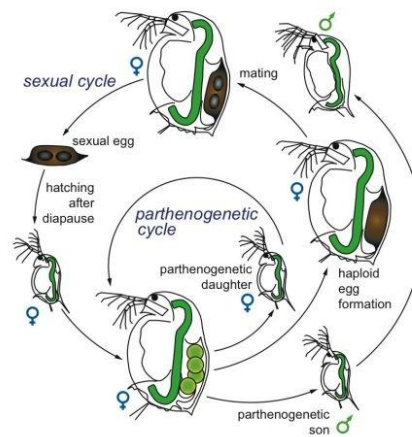
DE PROOI: WATERVLOOIEN – *DAPHNIA MAGNA*

Een goed bestudeerd voorbeeld van zoöplanktonorganismen, zijn waterlooien (genus *Daphnia* – Cladocera). Deze organismen komen overal ter wereld in zoetwater voor, met name in moerassen, vijvers, meren en rivieren. De soort *Daphnia magna* (Figuur 7), gebruikt voor de experimenten, komt voornamelijk in de noordelijke hemisfeer voor: Noord-Amerika, Eurazië en in delen van Afrika.

Hun levenscyclus kan op twee manieren gebeuren, afhankelijk van de omgevingscondities (Figuur 8). (i) In goede condities (voldoende licht, zuurstof en voedsel) planten deze dieren zich parthenogenetisch (aseksueel) voort, wat betekent dat ze geen partner van het andere geslacht nodig hebben. Meer nog, in deze condities komen enkel vrouwelijke individuen voor, en hun nakomelingen bestaan dan ook enkel en alleen uit genetisch identieke vrouwtjes. Deze eigenschap maakt hen bijzonder geschikt voor experimenten om omgevingseffecten te bestuderen, door het behouden van identieke, clonale lijnen. *Daphnia* voeden zich soms met kleine crustaceeën en rotiferen, maar voornamelijk met eencellige algen (fytoplankton). Het zijn filtervoeders en halen hun voedsel rechtstreeks uit de waterkolom. Zoals reeds gezegd zijn *Daphnia* ook een belangrijk onderdeel van het dieet van piscivore en macro-invertebrate predatoren en spelen ze een sleutelrol in de waterkwaliteit door de graasdruk die ze uitoefenen op fytoplankton.



Figuur 7: volwassen *Daphnia magna* met eitjes. *D. magna* van enkele dagen oud werd gebruikt als prooi voor de experimenten (Ebert, 2005).



Figuur 8: levenscyclus *Daphnia*, zie tekst (Ebert, 2005).

1.2.3. PREDATOR-PROOI INTERACTIES IN EEN OPWARMEND KLIMAAT

In deze studie is het de bedoeling om het verband te bestuderen tussen de stijgende temperaturen onder invloed van de klimaatsverandering en de eventuele veranderingen in interactie tussen predator en prooi. Afhankelijk van het relatief effect van temperatuur op predator en prooi, kan de mogelijkheid tot het vinden, vangen en verteren van een prooi door een predator afnemen, toenemen of stabiel blijven (Huey and Kingsolver, 1989, Kruse et al., 2008).

Algemeen kan men stellen dat, bij verhoogde temperatuur, een ectotherme predator zich actiever kan gedragen, waardoor deze in een groter gebied kan zoeken en de kans op het tegenkomen van prooien groter wordt. Daarenboven verlaagt de *handling time* van de predator bij stijgende temperatuur omwille van zijn hogere activiteit (Gilbert and Raworth, 1996), waardoor deze meer tijd heeft om naar prooien te zoeken, zie voorbeelden bij zandloopkevers die bij 36°C tot 7 keer meer prooien vingen dan bij 20°C (Dreisig, 1981) en roofwantsen waarbij de *handling time* drastisch verminderde bij een temperatuurstijging van 18°C naar 23°C (Mohaghegh et al., 2001). Een ectotherme prooi zal door zijn verhoogde activiteit een hogere kans op blootstelling aan predatoren vertonen, maar ook de kans op ontsnappen (Huey and Kingsolver, 1989). Schmalhofer and Casey (1999) geeft een voorbeeld van verhoogde activiteit van de prooien bij temperaturen tot 35°C in vergelijking met temperaturen tot 10°C, waardoor hun kans op ontsnapping aanzienlijk verhoogde. De relatieve effecten van predator en prooi zullen dus bepalend zijn voor hun fitness.

De vereenvoudigde predator-prooi – interactie tussen *I. elegans* (de juffers) en *D. magna* (de watervlooien) in laboratoriumcondities laat toe om bepaalde factoren

constant te houden (hoeveelheid voedsel, licht, turbiditeit, seizoenaliteit, fysische en biologische eigenschappen) en een aantal gewenste factoren onder standaardomstandigheden te bestuderen (temperatuur en keuze van latitude en populaties). Met een temperatuurverschil van 4°C (20°C versus 24°C) en drie latituden voor de *Daphnia* en voor de juffers (Zuid – Midden – Noord), werden verschillende condities getest. Door met verschillende populaties juffers en *Daphnia* te werken, afkomstig van verschillende latituden en dus aangepast aan verschillende temperaturen, zijn veel combinaties mogelijk. Zo kunnen bijvoorbeeld koud-aangepaste prooien gecombineerd worden met warm-aangepaste predatoren in een warm milieu. De best aangepaste *Daphnia* (met de hoogste fitness) zullen de predatiedruk beter overleven dan minder aangepaste *Daphnia*. Deze geven dan een maat voor de fitness van die populatie.

Bovenstaande assumpties kunnen belangrijke implicaties tot gevolg hebben, met in de eerste plaats een ernstige verstoring in de voedselketen: lokale juffers zullen actiever zijn en meer eten onder invloed van de temperatuurstijging en geïmmigreerde populaties juffers kunnen een hogere predatiedruk vertonen op de lokale prooipopulaties. Specifiek zouden Noordwaarts opschuivende populaties juffers zich zodanig kunnen aanpassen waardoor predatiedruk op de lokale *Daphnia* sterk verhoogd wordt.

1.3. CONSUMPTIEVE EN NIET-CONSUMPTIEVE EFFECTEN VAN PREDATOR OP PROOI

Om de interactie tussen predator en prooi beter te kunnen begrijpen, moeten we een onderscheid maken tussen de directe effecten van predatie (de consumptieve effecten: het doden en opeten van de prooien), en de indirecte effecten (de niet-consumptieve effecten: de fitnesskosten die antipredatorgedrag met zich meebrengen en de stress die predatoren op prooien veroorzaken). Op een langere tijdsperiode zullen deze beide effecten van groot belang zijn in populatiedynamieken (Creel and Christianson, 2008). De experimenten in dit onderzoek zijn echter op korte termijn, maar er kan verwacht worden dat het gedrag van de *Daphnia* door de aanwezigheid van juffers verandert. In experimentele condities, zullen de *Daphnia* de aanwezigheid van de juffers waarnemen door enerzijds direct contact (al dan niet lethaal) en anderzijds door signaalstoffen, in het bijzonder kairomonen, afkomstig van de juffers (Havel, 1987, Kats and Dill, 1998) en door alarmferomonen van dode en/of levende *Daphnia* (Weider and Pijanowska, 1993, Chivers and Smith, 1997). Het antipredatorgedrag van de *Daphnia* zal dus bepalend zijn voor de fitness (Riessen, 1992).

1.4. HYPOTHESEN

Uit bovenstaande literatuur, kunnen we volgende hypothesen opstellen:

1. Er wordt verwacht dat juffers bij een hogere temperatuur, 24°C, meer prooien zullen eten en dus actiever zullen zijn dan bij een lagere temperatuur, 20°C, gecorreleerd aan hun massa bij het begin van elk experiment.
2. Ongeacht de temperatuur van het experiment, wordt verwacht dat de juffers aangepast aan een warmer klimaat (multivoltien), meer prooien zullen eten dan de juffers van koelere klimaten (univoltien). Echter, de Zweedse juffers zullen op korte termijn meer energie steken in het vergaren van massa en groei dan de Belgische, omdat het vliegseizoen in noordelijke latituden korter is. Samengevat: voor deze experimenten verwachten we dat de Franse juffers meer prooien zullen eten dan de Zweedse, die op hun beurt weer meer prooien zullen eten dan de Belgische, zoals ook aangetoond in Shama et al. (in press).
3. Er wordt ook voorspeld dat *Daphnia* een hogere fitness (hoger overlevingspercentage) zullen hebben bij experimenten met temperaturen waarin ze genetisch aan geadapteerd zijn, dan *Daphnia* die niet aan deze temperaturen zijn geadapteerd. Concreet wordt dus voorspeld dat Franse *Daphnia* (warm aangepast) een hoger overlevingspercentage zullen hebben bij 24°C dan bij 20°C en dat Zweedse en Deense *Daphnia* (koud aangepast) een hoger overlevingspercentage zullen hebben bij 20°C dan bij 24°C. Bij de Belgische *Daphnia* wordt geen verschil in fitness verwacht tussen beide temperaturen.
4. *Daphnia* die in de experimenten worden blootgesteld aan juffers van dezelfde latituden als die van de *Daphnia* (lokale predator), zullen volgens de verwachtingen een hogere fitness (meer overleving) vertonen dan wanneer de *Daphnia* niet aan hun lokale predator worden blootgesteld.

2. MATERIAAL EN METHODEN

2.1. DE VERSCHILLENDE LATITUDEN

Om de effecten van temperatuursveranderingen op het migreren van soorten naar hogere latituden goed te kunnen bestuderen, is het noodzakelijk om te werken met organismen van verschillende latituden. De temperaturen, bepaald door de breedtegraden, bepalen op hun beurt het milieu van het organisme. Hogere latituden (dichter naar de polen toe) betekenen dus gemiddeld koudere temperaturen en omgekeerd. Dat is ook de reden waarom soorten onder invloed van global warming meer en meer naar deze polair gelegen gebieden migreren (Hickling et al., 2006). Er werd gekozen voor drie latituden tussen 40° en 60° NB, elk ver genoeg van elkaar verwijderd, zodat de populaties van elke latitude de populaties in de andere latituden niet konden beïnvloeden. Per latitude werd met twee populaties gewerkt, die genetisch voldoende verschillend waren om ze moleculair/genetisch (zie verder) te kunnen onderscheiden.

2.2. HET MODEL: PREDATOR – PROOI

2.2.1. DE WATERJUFFERS - PREDATOR

De juffers werden verzameld gedurende de zomer van 2010, hetzij via eigen staalnames, hetzij via staalnames van andere projecten. Tijdens deze staalnames werden telkens tien parende koppeltjes gevangen. Zo kon gegarandeerd worden dat de vrouwtjes bevrucht waren. De vrouwtjes werden apart gezet in een 200 ml – bekertje met vochtig papier, waarin ze eitjes konden afzetten. Na eileg werden de vrouwtjes weer vrijgelaten.

In totaal werden zes verschillende populaties waterjuffers opgekweekt in het labo: drie latituden (Zuid/Midden/Noord), met twee populaties per latitude (Figuur 9).

- Een Franse populatie afkomstig van Lac d'Arandon, Arandon
- Een Franse populatie afkomstig van Etang de Salette, Courtenay
- Een Belgische populatie afkomstig van het vijvercomplex 'De Maten', Genk
- Een Belgische populatie afkomstig van de vijvers aan campus Arenberg, Leuven
- Een Zweedse populatie afkomstig van Kalmar Dämme, Kalmar
- Een Zweedse populatie afkomstig van Långviken, Kalmar



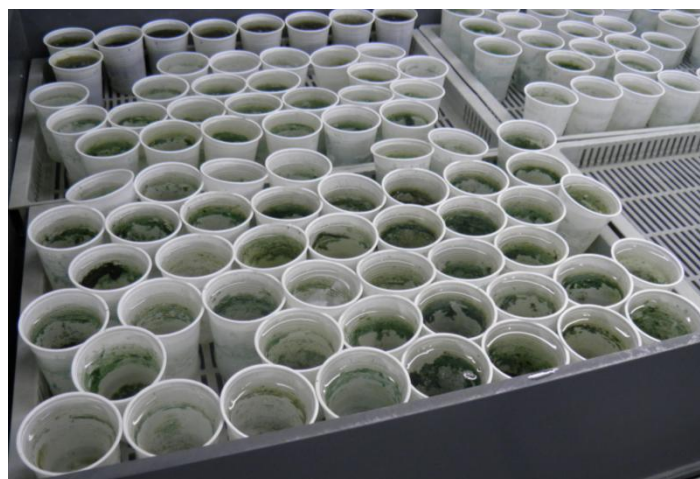
Figuur 9: Situering afkomst *I. elegans*.

(a) Kalmar, Zweden

(b) Leuven/Genk, België

(c) Arandon/Courtenay, Frankrijk

Vervolgens werd van elke populatie de helft van de eitjes in een *bain marie* bij 20°C gezet en de andere helft bij 24°C (Figuur 10). Wanneer de eitjes uitkwamen, werden de larven opgekweekt in gelabelde 200 mL – bekertjes met gedechloriseerd water, met vermelding van populatie en startdatum van opkweek. Gedurende hun groei kregen de juffers *ad libitum* *Artemia* nauplii toegediend als voedsel.



Figuur 10: de *I. elegans* - larven werden opgekweekt in afzonderlijke bekertjes bij 20°C en 24°C (foto: Maarten Van den Broeck).

Per populatie werden 300 individuen jufferlarven opgestart, wat een totaal van 1800 individuen opleverde (900 bij elke temperatuur). Gemiddeld vier maanden later bereiken de larven het F-0 stadium en werden deze gebruikt in de experimenten. Om de twee dagen werd gecontroleerd op larven die naar het F-0 stadium waren verveld. Voor de experimenten van 20°C werden larven gebruikt die zes dagen in het F-0 stadium waren, voor de 24°C – experimenten waren de juffers vijf dagen in het F-0 stadium, om de fysiologische condities gelijk te brengen. Fysiologische modellen, gebaseerd op de Arrheniusvergelijking voor temperatuursafhankelijkheid van chemische en fysiologische reacties, tonen aan dat een temperatuurverschil van 24°C ten opzichte van 20°C overeenkomt met een factor $f(T) \approx 1,34$ in groeisnelheid bij *Daphnia* (Rinke and Vijverberg, 2005):

$$f(T) = e^{[(T_A/T_{ref}) - (T_A/T)]}$$

Waarbij T_A de Arrheniustemperatuur is (hier 6400 K) en T_{ref} de referentietemperatuur (293 K, de temperatuur waarbij de fysiologische groeisnelheden gemeten werden). De T waarmee vergeleken werd ($\Delta T = 4^\circ\text{C}$), is hier dus 297 K. 24°C – *Daphnia* van drie tot vier dagen oud komen dus in fysiologische conditie overeen met 20°C – *Daphnia* van vier tot vijf dagen oud (zie verder). Naar analogie werd voorgesteld deze formule ook toe te passen op de juffers, zodat 24°C – juffers van vijf dagen oud overeenkomen met 20°C – juffers van zes dagen oud, zodat de fysiologische condities van de organismen gelijk zijn voor de experimenten. Een dag (24u) voor een experiment werden de te gebruiken juffers uitgehongerd. Op deze manier werd het hongerniveau van de dieren gestandaardiseerd.

2.2.2. DE WATERVLOOIEN - PROOI

Daphnia magna werd gebruikt als prooiorganisme. Ook hier werden zes populaties gebruikt, met opnieuw twee populaties per latitude (Zuid/Midden/Noord):

- Een Franse populatie afkomstig van Emprunt des Cerisières Nord, in de Zuid-Franse Rhône-delta, La Camargue
- Een Franse populatie afkomstig van Cerisières des Faïsses, in de Zuid-Franse Rhône-delta, La Camargue
- Een Belgische populatie afkomstig van de Oude Meren, Leuven
- Een Belgische populatie afkomstig van de vijvers ‘Oud-Heverlee Zuid’, Oud-Heverlee
- Een Zweedse populatie afkomstig van Lake Bysjön, Borlänge
- Een Deense populatie afkomstig van Lake Ring, Brødstrup

Merk op dat in de 'Noord'- populaties *Daphnia* gebruikt werden van twee verschillende landen (Zweden en Denemarken), terwijl de 'Noord'- populaties van de juffers alletwee afkomstig waren van Zweden. Beide populaties *Daphnia* liggen echter ver genoeg van de Belgische populaties *Daphnia*, waardoor de Deense en Zweedse *Daphnia* als 'Noord'- populaties kunnen beschouwd worden.

Alle *Daphnia* van de eerste generatie werden vanuit goede condities opgekweekt bij 20°C in een geklimatiseerde kamer. Dit gebeurde in 210 mL – potten in gedechloriseerd water, met 3 individuen per clone. Per pot kregen ze 300 µL algen (*Scenedesmus obliquus*) per dag (komt overeen met $140 \cdot 10^3$ cellen per mL). *Daphnia* van de tweede generatie werden overgeplaatst in 500 mL – potten, met 0,8 mL algen per pot per dag en opgesplitst over de temperaturen (20°C en 24°C) met 5 experimentele *Daphnia* per pot. Van elke clone werden twee potten per conditie opgestart.



Figuur 11: Situering afkomst *D. magna*.

(a) Borlänge, Zweden

(b) Brædstrup, Denemarken

(c) Leuven/Oud-Heverlee, België

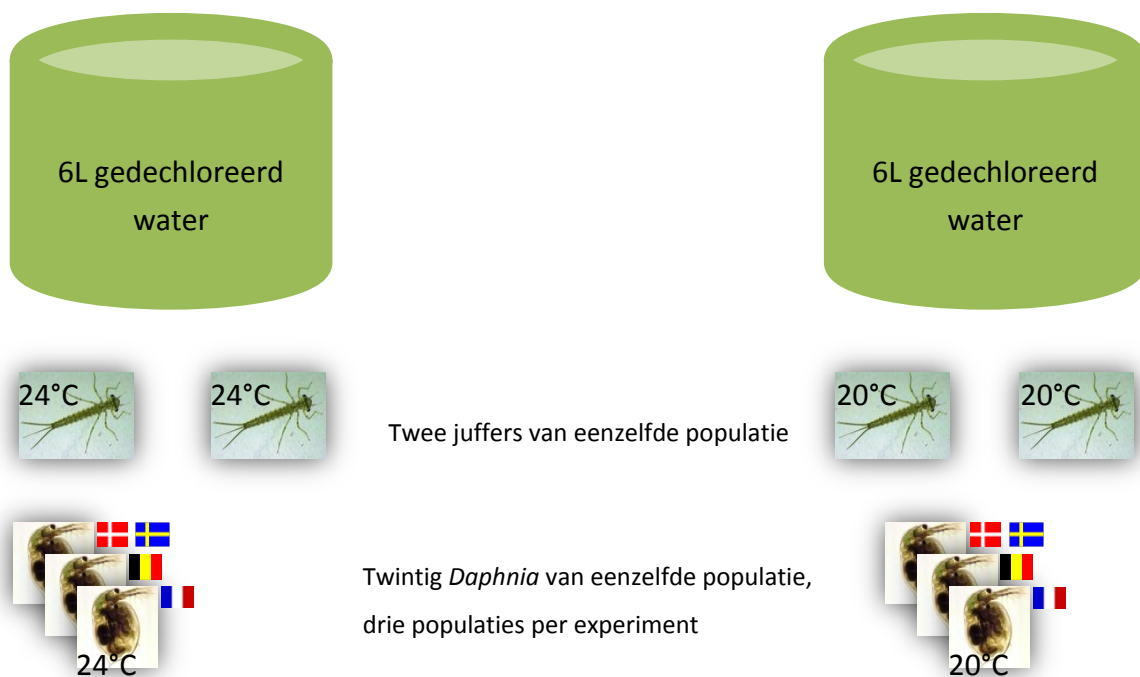
(d) La Camargue, Frankrijk

Van deze experimentele moederdieren (20°C en 24°C), werd telkens het broed vanaf de tweede generatie gebruikt voor de experimenten. Na zeven generaties werden de moederdieren vervangen en gebruikt om de clone opnieuw op te starten. Het water van de *Daphnia* werd om de twee dagen ververs, ook als het broed niet gebruikt werd voor de experimenten. Zo werd verzekerd dat de dieren in goede conditie bleven voor de experimenten. Er werd tevens voor gezorgd dat er steeds minimum 30 juvenielen per clone beschikbaar waren voor de experimenten. Per populatie waren er zes clones *D. magna* beschikbaar, elk opgekweekt bij 20°C en 24°C. Voor de 24°C – experimenten werden *Daphnia* gebruikt van drie à vier dagen oud, voor de 20°C – experimenten vier à vijf dagen, volgens de methoden van Rinke and Vijverberg (2005), zie 2.2.1.

2.3. DE EXPERIMENTELE SET-UP

2.3.1. DE EXPERIMENTEN

Volgens een wekelijkse planning (zie addendum, Figuur 17) werden de experimenten uitgevoerd. De experimenten gebeurden steeds rond de middag (12u-14u). Na een aantal pilootstudies werd besloten om per experiment 2 juffers en 20 *Daphnia* per populatie (latitude) te gebruiken (dus 60 *Daphnia* in totaal). De experimenten gebeurden in zes liter gedechloriseerd water, gedurende een periode van 2u, of tot ongeveer de helft van de *Daphnia* (30) waren opgegeten (zie Figuur 12).



Figuur 12: Experimentele setup. Er werden bij 20°C en bij 24°C experimenten uitgevoerd, telkens met twee juffers van een bepaalde populatie (Zweeds, Belgisch of Frans) en 20 *Daphnia* van elk van de drie latituden (Deens/Zweeds, Belgisch en Frans), 60 *Daphnia* in totaal.

Twee populaties juffers per latitude x drie latituden, geeft zes populaties juffers. Twee populaties *Daphnia* per latitude x drie latituden, geeft zes populaties *Daphnia*. Voor elke populatie *Daphnia* werden zes clones (vijf plus een reserve) getest. Hieruit volgt dat er per latitude twaalf clones beschikbaar waren, waarvan er tien werden gebruikt (twee reserve-clones dienden als back-up om eventueel gecrashte clones te vervangen).

De zes populaties juffers werden elk gecombineerd met de tien clones *Daphnia* per latitude, wat dus resulteert in 60 experimenten. Elk experiment werd herhaald in beide temperaturen, wat het uiteindelijke aantal experimenten op 120 brengt.

Er konden meerdere experimenten tegelijk gestart worden, mits een goede planning en indien genoeg dieren in het juiste stadium waren. Zowel prooi als predator moesten immers tegelijkertijd in goede conditie en in voldoende hoeveelheid beschikbaar zijn. 24 uur voor elk experiment werden de juffers uitgehongerd om alle juffers op een gelijk 'hongergevoel' te brengen. De te gebruiken watervlooien waren reeds twee tot drie dagen geïsoleerd van hun moeder. Vlak voor het experiment werden de juffers gewogen, om later variatie op massa te kunnen integreren in de analyse en het foerageersucces (aantal opgegeten *Daphnia* per tijdseenheid) te standaardiseren. Ook werd telkens van drie watervlooien per clone de lengte gemeten, opnieuw om de variatie tussen de *Daphnia* in rekening te kunnen brengen.

Bij de start van het experiment werden 60 *Daphnia* (20 per latitude) bij 2 juffers van eenzelfde populatie in een emmer met zes liter gedechloriseerd water gezet. Na twee uur, met constante temperatuur (20°C of 24°C) en constante lichtsterkte, werd gekeken hoeveel *Daphnia* er waren opgegeten door de juffers. Indien nog geen vijftien individuen opgegeten waren, werd het experiment verlengd, tot ongeveer de helft van de *Daphnia* was verorberd. Zo werd verzekerd dat er telkens tussen de ± 20 en ± 40 individuen overbleven. In 12% van het totaal aantal experimenten werden ook dode, niet opgegeten *Daphnia* teruggevonden. Dit fenomeen is bekend als 'wastefull killing' (Johnson et al., 1975). Deze werden als opgegeten *Daphnia* beschouwd in de experimenten.

De individuen die het overleefden, werden per experiment verzameld in een gemerkte eppendorftube en onmiddellijk ingevroren bij -80°C. Zo bleven de enzymen intact, noodzakelijk voor de volgende stap.

2.3.2. DE ALLOZYM-ELECTROFORESE

Om de percentages van de overlevende *Daphnia* te kennen en om te weten welke individuen (van welke latitude) het experiment overleefd hadden, werden de *Daphnia* ontdooid en getest met een allozym-electroforese, volgens een methode van Hebert and Beaton (1993).

Allozymes zijn eiwitten met dezelfde biologische eigenschappen, maar met licht verschillende fysische eigenschappen: onder invloed van een bepaalde pH-waarde verschillen ze in lading. Dit laat toe om allozymes te scheiden op een poreuze materie (cellulose-acetaat gel, 80% porositeit), onder invloed van een elektrisch veld. Meer negatief geladen deeltjes zullen sneller van de anode (-) naar de kathode (+) migreren dan minder negatief geladen deeltjes.

De migratiesnelheden van bepaalde allozymes zijn bekend en laten dus toe de bijhorende latituden van de *Daphnia* te achterhalen. Met twee verschillende kleuringen konden de drie latituden onderscheiden worden, door telkens de resultaten van de twee kleuringen te combineren. De twee gebruikte kleuringsmethoden waren Glucose-6-fosfaat-isomerase (GPI), waarmee twee allelen van allozymes onderscheiden konden worden, en Mannose-6-fosfaat-isomerase (MPI), waarmee drie allelen onderscheiden konden worden.

Door ervoor te zorgen dat bij elk experiment individuen gekozen worden zodanig dat geen van de drie populaties *Daphnia* dezelfde allozyme-combinaties heeft, is het mogelijk om na de experimenten de populaties te identificeren en te 'scoren'. Van elk experiment werden 20 individuen gescoord, waaruit dan opgemaakt werd van welke latitude de *Daphnia* die het experiment overleefd hadden afkomstig waren.

PROTOCOLS, ZIE (HEBERT AND BEATON, 1993)

Agarose-gel-elektroforese

- Agarose (4 g/mL) opkoken tot 100°C, bewaren in warmwaterbad bij 60°C
- Cellulose-acetaat platen (76 mm x 76 mm) minimum 3 dagen laten weken in Trizma Base – Glycine (TG) buffer, pH 8,5
 - 30 g Trizma Base
 - 144 g Glycine
 - Beide oplossen in 1 L H₂O, verdunnen in een 1:9 verhouding, tot pH 8,5
- *Daphnia* fijnmalen in 6 µL H₂O
- Cellulose-acetaat platen even droogdeppen, fijngemalen *Daphnia* stempelen (1x stempelen voor GPI-kleuring, 2x stempelen voor MPI-kleuring)
- Elektroforese in TG-buffer (pH 8,5), Whatman papieren wieken, runtime 22 minuten, 220 V (400 mA)

GPI-kleuring

- 1 mL Tris HCl (pH 8)
- 1,5 mL Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD, 2 mg/mL)
- 5 druppels Fructose-6-fosfaat (20 mg/mL)
- 5 druppels dimethyl Thiazolyl diphenyl Tetrazolium (MTT, 10 mg/mL)
- 5 druppels Phenazine Methosulfaat (PMS, 2 mg/mL)
- 10 µL Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PDH, 200 eenheden/mL)
- 5 mL Agarose (4g/100mL)

10-20 minuten laten stollen, Agarosegel verwijderen en onmiddellijk scoren.

MPI-kleuring

- 1 mL Tris HCl (pH 8)
- 1,5 mL Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD, 2 mg/mL)
- 5 druppels Mannose-6-fosfaat (20 mg/mL)
- 5 druppels dimethyl Thiazolyl diphenyl Tetrazolium (MTT, 10 mg/mL)
- 5 druppels Phenazine Methosulfaat (PMS, 2 mg/mL)
- 10 µL Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PDH, 200 eenheden/mL)
- 10 µL Phosphate-6-Glucose Isomerase (PGI, 10.000 eenheden/mL)
- 5 mL Agarose (4 g/100 mL)

30-45 minuten laten stollen in het donker, Agarosegel verwijderen en onmiddellijk scoren.

2.4. STATISTISCHE ANALYSES

De statistische analyses werden gedaan met Statistica 8.0 (2007). Om het verschil in massa van de juffers en lengte van de *Daphnia* bij beide temperaturen te testen, werd een tweewegs ANOVA uitgevoerd. Met behulp van een driewegs ANOVA kon het effect van temperatuur, latitude en hun eventuele interactie getest worden op het aantal opgegeten *Daphnia* per uur per massa-eenheid van de juffers. De onderlinge verhouding in fitness van de verschillende *Daphnia* werd geanalyseerd met een driewegs MANCOVA, zowel voor temperatuur als latitude van de juffers. Tenslotte werd met een enkelvoudige t-test elk percentage overlevende *Daphnia* vergeleken met de waarde 0,33... ($\frac{1}{3}$), om te bepalen hoe ver elk percentage van deze waarde is gelegen: indien de predatie volledig random zou gebeuren, dan hadden alle *Daphnia* evenveel kans om opgegeten te worden ($\frac{1}{3}$: van de 60 *Daphnia* per experiment waren er 20 juvenielen per latitude aanwezig bij de start van het experiment).

Er werden geen transformaties uitgevoerd, noch uitschieters uit de analyse gelaten, maar de variabelen 'gemiddelde grootte van de *Daphnia*' en 'score toegekend aan de allozymexperimenten' werden als covariabelen in het model gestopt. Deze 'score' (0, 1 of 2) was een maat voor hoeveel *Daphnia* het experiment overleefd hadden (0 voor meer dan 40 overlevende *Daphnia*, 1 voor minder dan 40 maar meer dan 33 overlevende *Daphnia* en 2 voor minder dan 33 overlevende *Daphnia*) en was dus een maat voor hoe goed er selectie heeft kunnen plaatsvinden op de experimentele *Daphnia* door de juffers.

3. RESULTATEN

3.1. ALGEMENE RESULTATEN

In totaal werden 117 geslaagde experimenten uitgevoerd (i.e. experimenten waarbij minstens 15 van de 60 *Daphnia* waren opgegeten). Van elk van de zes jufferpopulaties werden tien herhalingen gedaan per temperatuur, met uitzondering van de Arenbergjuffers bij 24°C: omwille van te weinig geschikte jufferlarven werden hiervan maar zeven herhalingen gedaan. Gemiddeld duurden de experimenten 2u32min waarbij gemiddeld 25 *Daphnia* werden opgegeten. Zie Tabel 1 voor meer gedetailleerde informatie.

De allozymkleuringen slaagden in 84 van de 117 experimenten, niet gelukte kleuringen zijn te wijten aan stalen die slecht werden bewaard (bacteriële rotting) of betwistbare of onduidelijke bandjespatronen. Deze 84 gelukte kleuringen kregen elk een score toegediend (0, 1 of 2) naargelang het aantal opgegeten *Daphnia*. Deze score was dus een maat voor de selectiedruk van de juffers.

Tabel 1: Algemene resultaten van de experimenten.

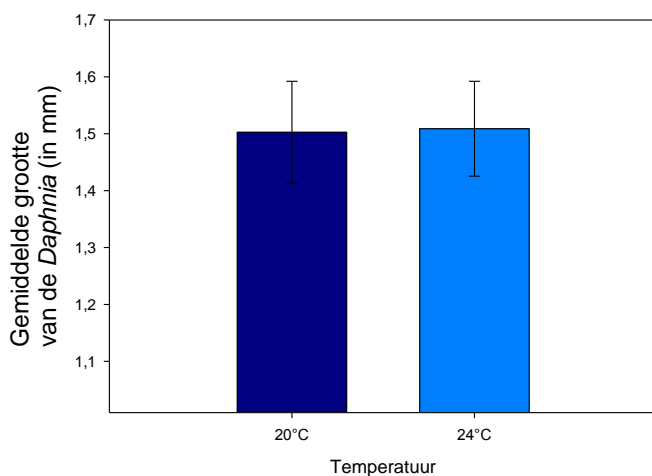
	Gemiddelde	Minimum	Maximum
Tijdsduur per experiment	2u32	2u00	4u03
Aantal opgegeten <i>Daphnia</i>	25	15	45
Grootte van alle gebruikte <i>Daphnia</i>	1,51 mm	0,96 mm	2,23 mm
Grootte <i>Daphnia</i> Zuid	1,49 mm	0,96mm	2,17 mm
Grootte <i>Daphnia</i> Midden	1,49 mm	0,97 mm	2,23 mm
Grootte <i>Daphnia</i> Noord	1,53 mm	1,02 mm	2,23 mm
Leeftijd van de gebruikte larven	125 dagen	70 dagen	206 dagen
Massa van de gebruikte larven	30,45 mg	22,06 mg	43,32 mg

Vóór de analyses werden uitgevoerd, werd gekeken naar eventuele verschillen in grootte van de *Daphnia* en massa van de juffers ten opzichte van temperatuur, met behulp van een tweewegs ANOVA (afhankelijke variabele resp. grootte *Daphnia* en massa juffer, categorische variabele temperatuur), zie Figuur 13 en Figuur 14. Er is geen effect van de grootte van de *Daphnia* bij de verschillende temperaturen ($F_{3,114} = 0,020$ en $p > 0,1$), maar wel een verschil in massa van de juffers bij beide temperaturen ($F_{3,114} = 45,90$ en $p < 0,001$): de juffers opgekweekt bij 20°C wogen significant meer dan de juffers die bij 24°C werden opgekweekt. Omwille van dit verschil werd het aantal opgegeten *Daphnia* per uur gedeeld door de gemiddelde massa van de juffers die per

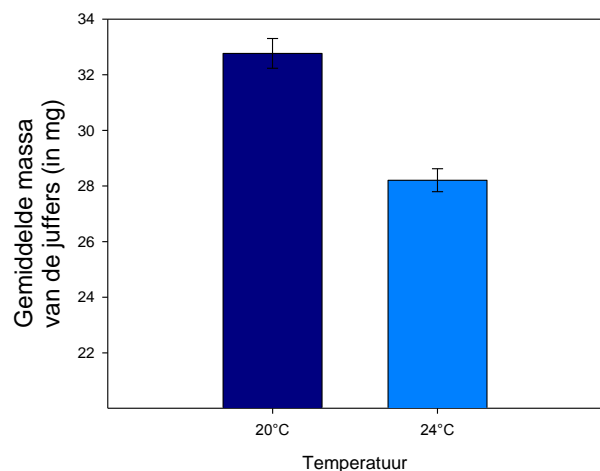
experiment gebruikt werden. In de rest van de analyses werd ook steeds de gemiddelde grootte van de *Daphnia* gebruikt als continue variabele.

Iets meer in detail bekeken, blijken de verschillen in massa van de juffers vooral te wijten te zijn aan de verschillen in massa tussen de latitude 'Zuid' enerzijds en de latituden 'Midden' en 'Noord' anderzijds. De juffers 'Noord' en 'Midden' hebben gemiddeld een 21% hogere massa dan de juffers 'Zuid' bij 20°C en hebben een 11% hogere massa bij 24°C (interactie-effect van massa op temperatuur en latitude: $F_{2,107} = 5,64$; $p < 0,01$).

De ontwikkelingstijd van de juffers varieerde van 70 dagen tot 200 dagen, waarbij de twee populaties van de zuidelijke latituden en één populatie 'Midden' (De Maten) als eerste tot het F-0 stadium ontwikkelden (70-120 dagen). De andere populatie 'Midden' (Arenberg) deed er tot 3x langer over om te ontwikkelen tot F-0, net zoals de twee populaties 'Noord' (100-200 dagen).



Figuur 13: Gemiddelde grootte van de experimentele *Daphnia* bij de twee temperaturen 20°C (donkerblauw) en 24°C (lichtblauw). Resultaten worden weergegeven als gewogen gemiddelden ± 1 SE.

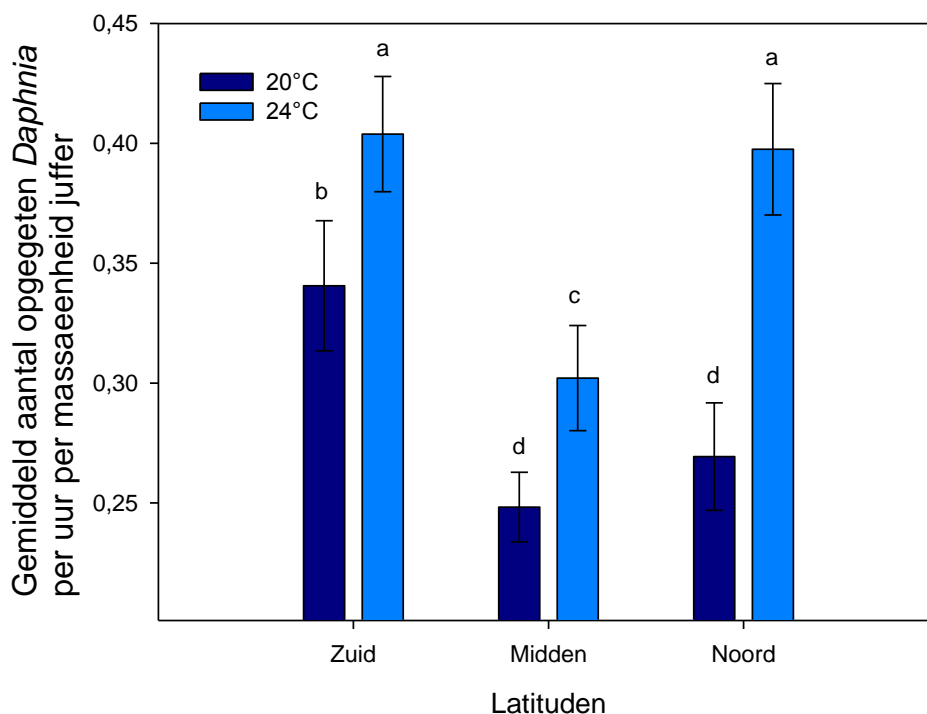


Figuur 14: Gemiddelde massa van de experimentele juffers bij de twee temperaturen 20°C (donkerblauw) en 24°C (lichtblauw). Resultaten worden weergegeven als gewogen gemiddelden ± 1 SE.

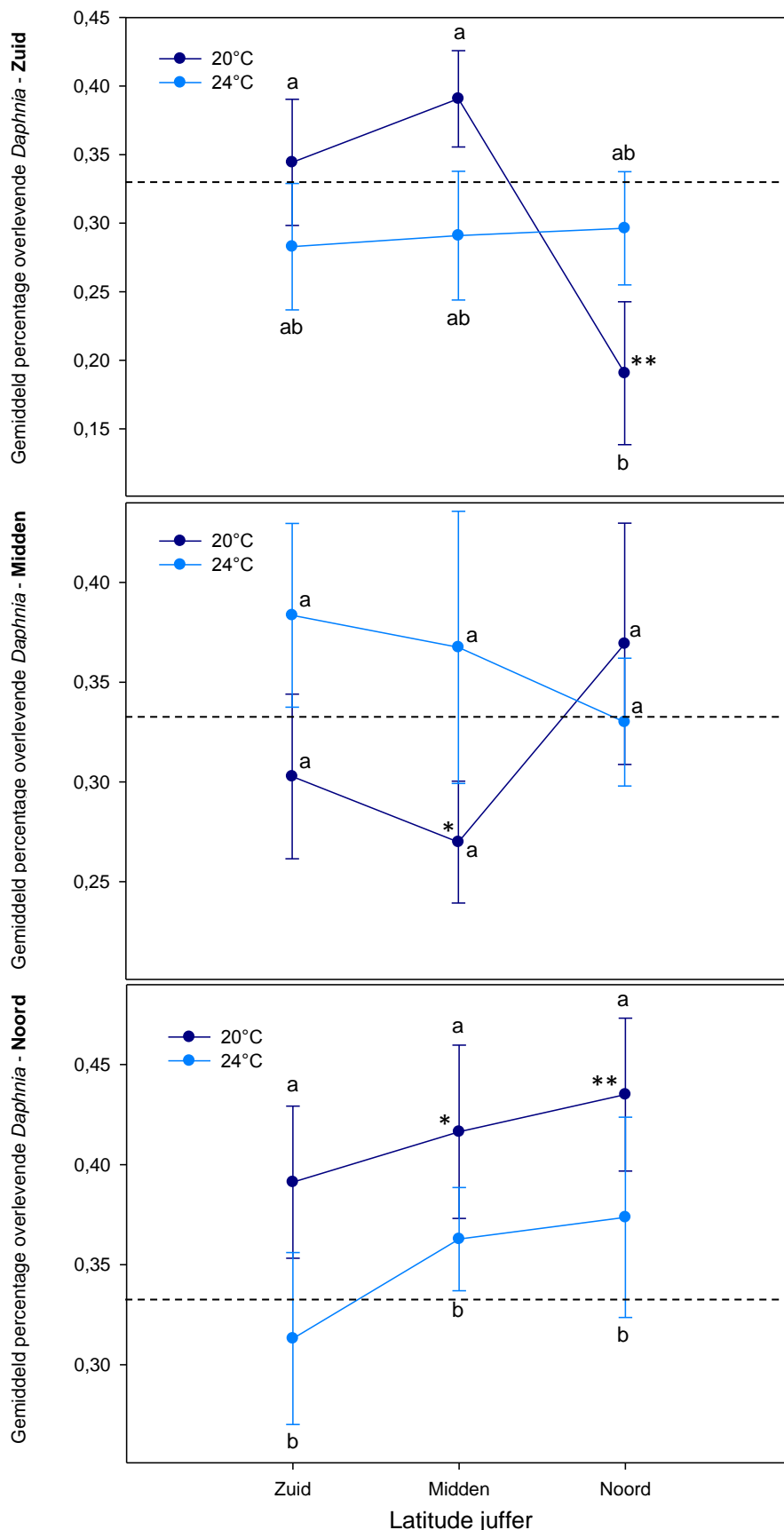
3.2. FOERAGEERSUCCES JUFFERS: TEMPERATUUR- EN LATITUDE-EFFECT

Met een driewegs ANOVA werd gekeken naar de *main effects* van temperatuur en latitude en naar het interactie-effect tussen beide. Het gemiddeld aantal opgegeten *Daphnia* was de afhankelijke variabele, met temperatuur, populatie en latitude als categorische variabelen en de grootte *Daphnia* als continue variabele. Populatie werd ook genest in latitude. Er bleek noch een *main effect* ($F_{3,101} = 2,47$; $p = 0,07$) voor populatie, noch een interactie-effect met temperatuur en latitude (al dan niet genest) te zijn ($F_{3,101} = 1,94$; beide $p > 0,1$). De factor populatie werd dus niet in het model opgenomen.

Globaal (zie Figuur 15) geldt dat de juffers, ongeacht hun latitude, bij 24°C 30% meer *Daphnia* aten dan de juffers bij 20°C ($F_{1,106} = 19,01$; $p < 0,001$). Tevens geldt dat de latitude 'Midden' (Belgische juffers) significant verschilt met de latituden 'Noord' (Zweedse juffers) en 'Zuid' (Franse juffers) (Post Hoc Tukey HSD tests beide $p < 0,001$, globaal latitude effect $F_{2,106} = 6,96$; $p < 0,001$). Juffers van deze laatste twee latituden aten, ongeacht de temperatuur, resp. 20% en 32% meer *Daphnia* dan de juffers 'Midden'. Interactie tussen temperatuur en latitude werd niet gevonden ($F_{2,106} = 1,71$; $p > 0,1$).



Figuur 15: Gemiddeld aantal opgegeten *Daphnia* per uur per massa-eenheid juffer voor de drie latituden Zuid (Frans), Midden (Belgisch) en Noord (Zweeds), en voor de temperaturen 20°C (donkerblauw) en 24°C (lichtblauw). Verschillende letters geven significante verschillen weer ($\alpha < 0,05$). Resultaten worden weergegeven als gewogen gemiddelden ± 1 SE.



Figuur 16: driewegs MANCOVA voor de gemiddelde percentages van de overlevende *Daphnia* per latitude (van boven naar onder: Zuid – Midden – Noord), vergeleken bij beide temperaturen (20°C, donkerblauw en 24°C, lichtblauw) en de drie latituden van de juffers (Zuid (Frans) – Midden (Belgisch) – Noord (Zweeds)). Resultaten worden weergegeven als gewogen gemiddelden ± 1 SE. Punten aangeduid met * zijn afwijkende waarden ($\alpha < 0,1$) van 0,33... (aangeduid met een stippellijn), punten aangeduid met ** zijn significante verschillende waarden ($\alpha < 0,05$). Verschillende letters geven significante verschillen weer ($\alpha < 0,05$).

3.3. FITNESS *DAPHNIA* – TEMPERATUUR– EN LATITUDE-EFFECT

Met een driewegs MANCOVA (afhankelijke variabele: percentages overlevende *Daphnia* per latitude, met temperatuur en latitude als categorische variabele en gemiddelde grootte van de *Daphnia* als continue variabele) werd het verband getest tussen de gemiddelde percentages overlevende *Daphnia* met temperatuur en latitude. Enkel experimenten met een score van één of twee (waarbij minstens 20 van de 60 *Daphnia* opgegeten waren), werden gebruikt voor de analyses. Opnieuw werd gekeken naar de *main effects* van temperatuur en latitude en het interactie-effect.

Voor de *Daphnia* 'Zuid' werd een significant interactie-effect gevonden tussen temperatuur en latitude ($F_{2,49} = 3,38$; $p = 0,04$): hun gemiddelde overleving ($\pm 19\%$) is lager wanneer er een juffer 'Noord' predatie uitoefent op de *Daphnia*, in vergelijking met de overleving bij de juffers 'Midden' ($\pm 39\%$) en 'Zuid' ($\pm 34\%$), maar enkel bij 20°C (Post Hoc Fisher LSD tussen beide $p < 0,03$). Voor de *Daphnia* 'Midden' werden geen significante effecten gevonden voor temperatuur, latitude, noch interactie (alle p -waarden $> 0,1$). De *Daphnia* 'Noord' kenden gemiddeld wel een significant temperatuur-effect ($F_{1,81} = 3,99$; $p = 0,049$): gemiddeld overleefden er 1,19x meer *Daphnia* 'Noord' bij 20°C (41,5%) dan bij 24°C (35%), ongeacht de predator (Figuur 16). Ook hier waren geen latitude- of interactie-effecten.

Ten slotte werden alle percentages overlevende *Daphnia* per latitude en temperatuur vergeleken met de waarde 0,33... ($\frac{1}{3}$), om na te gaan hoever elk van deze percentages afweek van een willekeurige prooiselectie van de predator. Globaal (voor alle experimentele latituden en temperaturen), lagen de percentages van de overlevende *Daphnia* 'Zuid' onder deze waarde ($t_{1,83} = -2,64$; $p < 0,01$) en de percentages van de overlevende *Daphnia* 'Noord' boven deze waarde ($t_{1,83} = 2,92$; $p < 0,01$). Dit effect bleek echter wel afhankelijk te zijn van temperatuur en latitude van de juffers.

Bij de drie latituden, enkel bij 20°C, werden afwijkende waarden ($\alpha < 0,1$; aangeduid met * op Figuur 16) en significante verschillen ($\alpha < 0,05$; aangeduid met ** op Figuur 16) gevonden. Bij 24°C werden dergelijke afwijkende of significante waarden niet gevonden. *Daphnia* 'Zuid' (bij 20°C) vertoonden gemiddeld een lagere overleving wanneer ze blootgesteld werden aan juffers 'Noord' ($t_{1,13} = -2,84$; $p < 0,01$). *Daphnia* 'Midden' vertoonden gemiddeld een lagere overleving bij blootstelling aan juffers 'Midden' ($t_{1,15} = -1,77$; $p < 0,09$). *Daphnia* 'Noord' vertoonden daarentegen gemiddeld een hogere overleving bij juffers 'Noord' ($t_{1,13} = 2,66$; $p = 0,02$) en 'Midden' ($t_{1,15} = 1,92$; $p = 0,07$).

4. DISCUSSIE

Om effecten van global change en bijgevolg de veranderingen in temperatuur beter te kunnen begrijpen, hebben we in deze studie gekeken naar de interactie tussen zes populaties predatoren (larven van waterjuffers) en zes populaties prooien (watervlooien, genus *Daphnia*), beiden afkomstig van drie latituden (Zuid – Midden – Noord) en aangepast aan verschillende temperaturen (20°C en 24°C). De relatieve effecten van predator op prooi, laten toe om de fitness te bestuderen van de prooien onder verschillende omstandigheden (Huey and Kingsolver, 1989, Kruse et al., 2008). We bestudeerden de globale effecten van temperatuur en latitude en hun interactie-effect, zowel op het foerageersucces van de juffers (aantal opgegeten juffers per uur per massa-eenheid juffer) als op de gemiddelde overlevingspercentages van de *Daphnia* van elk van de latituden. Om populatiespecifieke afwijkingen te kunnen detecteren, hebben we telkens per latitude twee populaties getest. Deze bleken echter geen significante verschillen op te leveren waardoor we mogen aannemen dat de verschillen die we vinden effectief te wijten zijn aan latitude-effecten en niet het gevolg zijn van specifieke condities in de populaties.

Zoals aangetoond in Figuur 13, waren de *Daphnia* gemiddeld even groot bij beide temperaturen, hoewel deze een verschillende leeftijd hadden: de koud aangepaste *Daphnia* waren 4 à 5 dagen oud, terwijl de warm aangepaste *Daphnia* 3 à 4 dagen oud waren. Daarmee wordt de hypothese van verschillende fysiologische ontwikkeling bij twee temperaturen bevestigd (Rinke and Vijverberg, 2005). De gemiddelde massa van de juffers opgekweekt bij 20°C is gemiddeld wel hoger dan bij 24°C, wat uit een gedetailleerde analyse vooral blijkt veroorzaakt te zijn door de hogere massa van de juffers 'Noord' en 'Midden' bij 20°C dan de juffers 'Zuid' bij 20°C. Hier kan de verklaring gezocht worden in de univoltiene levenswijze van de juffers 'Noord' en 'Midden', die meer energie zullen steken in het vergaren van massa in vergelijking met de juffers 'Zuid' (multivoltien). Deze laatste zullen meer *Daphnia* eten maar hun energiebalans zal eerder neigen naar het produceren van meerdere generaties dan het vergaren van massa, zie ook Shama et al. (in press). Opvallend was ook de grote variatie in ontwikkelingstijd bij het opkweken van de juffers, deze varieerde van 70 dagen tot 200 dagen. De eerste juffers die het F-0 stadium bereikten, waren de twee Franse populaties en de Belgische populatie van De Maten. De snelle ontwikkeling heeft voornamelijk te maken met het multivoltinisme in het geval van de juffers 'Zuid'. De reden waarom de juffers van De Maten veel sneller vervelden dan de tweede Belgische populatie, Arenberg, is niet duidelijk. De juffers 'Noord' deden duidelijk langer over hun ontwikkelingsstadia (tot twee keer zo lang als de juffers 'Zuid'). Deze eersten staken dan ook meer energie in het vergaren van massa.

Om de verschillende effecten van temperatuur en latitude correct te interpreteren, is het noodzakelijk om te kijken naar de manier waarop selectie kan gebeuren door de juffers op de *Daphnia*. Jufferlarven zijn *sit-and-wait* – predatoren (Bouchard, 2009), wat betekent dat ze niet actief achter hun prooi aan zwemmen. Omdat ze in de natuur schaduwrijke plaatsen verkiezen, is het belangrijk om bij de experimenten overal evenveel licht te voorzien. In onze experimenten laten ze zich zakken tot op de bodem van de emmer, waar ze wachten tot een prooi voorbijzwemt. Ze verplaatsen zich in ons experiment ongeveer elke 10 à 15 minuten (persoonlijke observaties), waardoor de kans groter wordt dat ze prooi tegenkomen. Juffers zullen hierbij signaalstoffen verspreiden, in het bijzonder kairomonen (Havel, 1987, Kats and Dill, 1998), wat zal opgemerkt worden door de prooi. Komt een prooi tot vlakbij in de buurt, tot bijna aanraking, zal de juffer zich draaien in de richting van de prooi, in een poging deze vast te grijpen met de mond. *Daphnia* zwemmen echter continu rond met springende bewegingen op zoek naar voedsel. Bij het opmerken van dergelijke signaalstoffen of alarmferomonen van dode en/of levende *Daphnia*, kunnen de *Daphnia* zich dus weg van de predator bewegen (Weider and Pijanowska, 1993, Chivers and Smith, 1997). Het antipredatorgedrag van de *Daphnia* zal met andere woorden bepalend zijn voor hun fitness, onder invloed van signaalstoffen van de juffers, zoals ook aangetoond in Riessen (1992) en Gliwicz and Maszczyk (2007).

4.1. FOERAGEERSUCCES JUFFERS: TEMPERATUUR– EN LATITUDE-EFFECT

Zoals verondersteld werd in de eerste hypothese, aten de juffers in de drie latituden bij 24°C (gemiddeld 30%) meer *Daphnia* dan bij 20°C. Men kan dus stellen dat de juffers actiever rondzwommen door het temperatuurverschil waardoor de kans op het tegenkomen van prooi verhoogde (De Block and Stoks, 2003). Daarmee sluit dit onderzoek aan bij het groeiend aantal studies waarin aangetoond wordt dat ectotherme predatoren meer eten bij hogere temperaturen (Dreisig, 1981, Mohaghegh et al., 2001) en actiever zullen zijn bij hogere temperaturen (Huey and Kingsolver, 1989, Gilbert and Raworth, 1996, Kruse et al., 2008). Daarnaast kan men ook stellen dat juffers temperatuurgeneralisten zijn, die onder hun thermale optimum leven en daardoor actiever zijn bij hogere temperaturen. Vooral het actiever rondzwemmen is een belangrijke factor voor het aantal opgegeten *Daphnia*, maar ook de *handling time* die verlaagt, besproken in Gilbert and Raworth (1996).

Ook de latitude van de juffers is een belangrijke factor bij het aantal opgegeten *Daphnia*: de juffers ‘Noord’ aten bij beide temperaturen gemiddeld 20% meer *Daphnia* dan de juffers ‘Midden’, en de juffers ‘Zuid’ aten zelfs gemiddeld 32% meer dan de juffers ‘Midden’. Op zich lijkt de (voor de hand liggende) hypothese dat er een soort lineair verband zou zijn tussen het aantal opgegeten prooi en de latitude (van Zuid

naar Noord) aannemelijker. Toch blijkt dat bij beide temperaturen de juffers 'Noord' meer prooien gegeten hebben dan de juffers 'Midden', terwijl de juffers 'Zuid' de meeste prooien aten, zoals voorgesteld in de tweede hypothese. Indien we veronderstellen dat het aantal opgegeten *Daphnia* gekoppeld is aan groei, is dit tevens in overeenstemming met Shama et al. (in press). De verklaring hiervoor kan gezocht worden in het voltinisme. Een juffer 'Zuid' is multivoltien en zal sneller groeien omdat deze meerdere generaties per jaar heeft. Dit betekent dus dat deze meer zal moeten eten dan uni- of bivoltiene juffers. De juffers 'Noord' en 'Midden' zijn beide univoltien, maar het vliegseizoen is korter in de noordelijke latituden waardoor deze juffers meer moeten eten op kortere tijd. Daarom zullen de juffers 'Noord' relatief meer eten dan hun soortgenoten van de latitude 'Midden'.

Het feit dat er geen interactie-effect is tussen temperatuur en latitude, zou kunnen wijzen op het feit dat deze twee factoren alle twee onafhankelijk hun invloed zullen hebben op het gedrag van predator en prooi en dat andere plaatselijke factoren (zoals biotische interacties, voltinisme...) een belangrijke rol spelen (Mitchell and Lampert, 2000). Zoals aangetoond in de bovenstaande *main effects* van temperatuur en latitude, zullen beiden het aantal opgegeten *Daphnia* onafhankelijk beïnvloeden, hoewel er in werkelijkheid wel een verband is tussen temperatuur en latitude (Walther et al., 2002).

4.2. FITNESS *DAPHNIA* – TEMPERATUUR- EN LATITUDE-EFFECT

De gemiddelde overlevingspercentages van de *Daphnia* geven weer hoe goed een prooi is aangepast aan een bepaalde temperatuur en predator van een bepaalde latitude. Een eerste waarneming, is dat *Daphnia* 'Noord' een hogere overlevingskans hebben bij 20°C (41,5%) dan bij 24°C (35%), ongeacht de predator. Dit sluit gedeeltelijk aan bij de derde hypothese die stelt dat *Daphnia* een hogere fitness zullen hebben in temperaturen waaraan ze genetisch zijn geadapteerd. Voor de *Daphnia* 'Zuid' is een dergelijk effect niet zichtbaar, hoewel in combinatie met een juffer 'Noord' er meer *Daphnia* 'Zuid' zullen overleven bij 24°C (30%) dan bij 20°C (19%).

Bij de *Daphnia* 'Zuid' wordt een sterk interactie-effect waargenomen: bij 20°C is de overleving van de *Daphnia* beduidend lager in combinatie met juffers 'Noord', vergeleken met de juffers 'Zuid' of 'Midden' (resp. 1,8x en 2x zo hoog). Dit betekent dat een 'vreemde' (gemigreerde) predator een grotere predatiedruk zal uitvoeren op de lokale prooipopulaties, in dit specifieke geval bij 20°C, waarbij een noordelijke predator aast op zuidelijke prooien.

Alle percentages van de overleefde *Daphnia* werden ook vergeleken met de gemiddelde waarde 0,33... die we verwachtten indien de selectie door de juffers

random zou gebeuren. Hieruit bleek echter dat bij 20°C de *Daphnia* 'Noord' een hogere overleving (1,33x hoger) hadden bij juffers 'Noord' (hun lokale predator) in vergelijking met het overlevingspercentage van 33%. Een gelijkaardige trend werd ook waargenomen bij deze *Daphnia* 'Noord' in combinatie met juffers 'Midden' (1,24x hoger). Bij de *Daphnia* 'Zuid' werd eveneens een gelijkaardig, maar omgekeerd effect waargenomen: bij 20°C hadden de *Daphnia* 'Zuid' een lagere overleving (0,42x lager) indien ze geconfronteerd werden met een juffer 'Noord' (een 'vreemde' predator) in vergelijking met het overlevingspercentage van 33%. Ten slotte werd er ook een tegenstrijdige trend teruggevonden bij *Daphnia* 'Midden' bij 20°C: in combinatie met hun lokale juffers 'Midden' zullen deze prooien een mindere overleving hebben (0,20x lager). Merk op dat geen van bovenstaande effecten werd teruggevonden bij 24°C, het gaat dus steeds om interactie-effecten tussen temperatuur en latitude die enkel aan te tonen zijn bij 20°C.

De effecten omtrent overleving van de *Daphnia* per latitude en temperatuur kunnen verklaard worden in het kader van lokale adaptatie. Lokale adaptatie aan omgevings- en temperatuursveranderingen kunnen een rol spelen in overlevingsstrategieën bij *Daphnia* (Declerck et al., 2001), hoewel de interactie met een predator een belangrijkere invloed zal hebben op levenscyclus-eigenschappen zoals groeisnelheid en fitness (Mitchell and Lampert, 2000). Verder kan aangenomen worden dat de link tussen predator en prooi zeer nauw samenhangt: wanneer de ene soort een verbeterde eigenschap ontwikkelt, zal door natuurlijke selectie een compenserende eigenschap bij de andere ontwikkelen (Brodie and Brodie, 1999). Lokale prooien zijn dus aangepast aan hun lokale predator en worden daarom minder gepredeerd (hypothese vier). Deze veronderstelling kan echter ook in de omgekeerde richting bekeken worden: gemigreerde 'vreemde' predatoren zullen zich aanpassen aan de lokale prooien om zoveel mogelijk prooien te vangen, te verwerken en te eten. De lokale adaptatie lijkt dus zowel mogelijk voor prooi als predator. Toch wordt gesuggereerd dat de selectie op compenserende eigenschappen asymmetrisch is, omdat prooien zich over het algemeen sneller zullen aanpassen (Brodie and Brodie, 1999). Voor de organismen in deze studie worden hiervoor twee verklaringen gegeven. (i) De generaties van *Daphnia* volgen elkaar sneller op dan de generaties van de juffers, waardoor selectie sneller kan gebeuren in *Daphnia* en eigenschappen beter kunnen doorgegeven worden aan volgende generaties. (ii) Er is een hogere druk op de fitness van de *Daphnia* dan op die van de juffers. Het *life-dinner* model (Dawkins and Krebs, 1979) beschrijft de concurrentiestrijd en de gekoppelde fitnesskost tussen predator en prooi. Toegepast op dit onderzoek geldt dan dat indien een juffer een *Daphnia* mist en er niet in slaagt om deze te vangen, hier geen directe fitnesskosten aan verbonden zijn voor de juffer. Deze kan opnieuw op zoek gaan naar een nieuwe prooi en heeft bij

wijze van spreken enkel een maaltijd (*dinner*) verloren. Anderzijds, indien de *Daphnia* wel gevangen en opgegeten wordt, resulteert dit in nihil fitness voor de prooi en is deze zijn leven kwijt (*life*). Consequenties voor de prooien zijn dus veel groter dan voor de predatoren en resulteren bijgevolg in een hogere selectiedruk op de prooien dan op de predatoren.

De overlevingspercentages van de *Daphnia* 'Noord' en 'Zuid' bij 20°C passen dus in bovenstaande hypothesen. In het geval van de *Daphnia* 'Noord' is de overleving het hoogst bij de lokale predator door lokale adaptatie van de *Daphnia*. In het geval van de *Daphnia* 'Zuid', is het overlevingspercentage het minst bij de 'vreemde' juffers 'Noord', omdat de *Daphnia* 'Zuid' niet aangepast is aan deze predator. Het (minder sterke) effect van de juffers 'Midden' bij *Daphnia* 'Midden' is echter niet op één lijn met het voorgaande: hier is de overleving van de *Daphnia* 'Midden' het minst bij hun lokale predator. Hier zou eventueel een sterkere lokale adaptatie van de juffers een rol kunnen spelen, waardoor de juffers het best aangepast zouden zijn aan hun prooien.

De verklaring waarom bovenstaande effecten enkel bij 20°C waar te nemen zijn, kan gezocht worden in de verticale migratie (VM) van de *Daphnia* (Lampert, 1993). Winder et al. (2004) bespreekt hoe de temperatuur (en voedsel) de plaats bepalen tot waar *Daphnia* migreren in de waterkolom. *Daphnia* migreren van de warme toplaag naar de koudere onderliggende lagen. Koude temperaturen (in combinatie met minder voedsel) zullen een kost vormen voor migratie, dus hoe warmer de algemene temperatuur van een systeem, hoe minder kostelijk de migratie zal zijn en hoe dieper de *Daphnia* zich in de waterkolom zullen bevinden. In de experimenten uitgevoerd in deze studie is dergelijke VM niet mogelijk, maar *Daphnia* (van alle latituden) die in de 24°C-experimenten gebruikt worden, kunnen de tendens vertonen onderaan de emmer te gaan zwemmen. De juffers, die zich op de bodem van de emmer bevinden, zullen dan veel willekeuriger azen op al deze *Daphnia*, zodat het verschil in predatiedruk tussen de drie latituden kleiner wordt en alle overlevingspercentages van de 24°C-*Daphnia* dichterbij 33% zullen liggen. Verdere studies naar de verticale migratie en migratiesnelheden om deze hypothesen te bevestigen zijn dus vereist, hoewel een verband tussen activiteit en thermale aanpassing bij *Daphnia* aangetoond is in Zeis et al. (2004).

4.3. CONCLUSIE

Global change is een feit en kent verschillende oorzaken (Vitousek, 1994), maar ook gevolgen (Palumbi, 2001), waaronder migraties van soorten, ook bij Odonata (Hickling et al., 2005, Hassal and Thompson, 2008). We toonden aan dat een opwarming van het klimaat (+4°C) drastische effecten kan hebben op zoetwaterinvertebraten. Zo zullen

waterjufferlarven van het lantaarntje (*Ischnura elegans*) tot 30% meer prooien (*Daphnia magna*) eten bij een dergelijke temperatuurstijging. We vonden bovendien aanwijzingen dat *Daphnia*, genetisch geadapteerd aan een bepaalde temperatuur en lokale predator, een hogere predatiedruk kunnen ondervinden wanneer ze geconfronteerd worden met een 'vreemde' predator. De gevolgen op de ecosystemen hiervan zijn complex en hebben op veel organismen en hun ecologie een sterke invloed (Daufresne et al., 2009). De drie hierin beschreven universele ecologische gevolgen met betrekking tot de klimaatopwarming kunnen ook gekoppeld worden aan onze resultaten. (i) *Het migreren van soorten naar noordelijke latituden*: we toonden aan dat juffers van zuidelijke latituden een negatief effect hebben op noordelijke populaties *Daphnia* en dat deze meer prooien zullen eten bij een temperatuurstijging. (ii) *Het vinden van kleinere organismen van eenzelfde genus bij warmere omgevingen, de zogenaamde regel van Bergmann*: de massa's van de juffers van zuidelijke latituden lagen beduidend lager dan de massa's van de juffers van noordelijke latituden en zouden het qua volume/massa/temperatuur- verhouding bij een stijgende temperatuur dus beter doen en daardoor een thermisch voordeel kunnen hebben ten opzichte van de noordelijke juffers. (iii) *Seizoendale shifts*: indien temperatuursveranderingen zo drastisch worden dat de vliegseizoenen van de juffers langer worden, zou dit kunnen betekenen dat uni- of bivoltiene organismen overschakelen op een multivoltiene levenswijze, zoals voorgesteld in Braune et al. (2008).

De co-evolutie van predator en prooi en hun onderlinge dynamische processen, zowel de hogere activiteit en het meer eten door de predatoren bij hogere temperaturen, als de hogere predatiedruk van de 'vreemde' predatoren op de prooien, hebben niet alleen gevolgen voor de abundantie van de prooipopulaties. Kleine veranderingen in één biotische interactie (bijvoorbeeld predatie) kunnen daardoor indirecte effecten van global change sterk vergroten in de hele trofische cascade waarin ze zich bevinden (Kirby and Beaugrand, 2009, Jiguet et al., 2011), zeker in de afwezigheid van vispopulaties (Xenopoulos and Lodge, 2006). Aquatische systemen zijn hier vaak het meest gevoelig aan (Daufresne et al., 2009). Daarenboven is drinkbaar water, en specifiek oppervlaktewater, overal ter wereld kwetsbaar (Gupta, 2002, Beuhler, 2003, Senhorst and Zwolsman, 2005, Prowse et al., 2006, Sprenger et al., 2011). Helaas zijn juist deze wateren zoals gezegd sterk onderhevig aan de klimaatsverandering maar worden ze ook bedreigd door overexploitatie, pollutie, invasieve soorten en run-off van kunstmatige meststoffen vanuit de landbouw (Cole and Landres, 1996). De zich hierin gesitueerde trofische cascades zijn dus niet alleen onder invloed van een temperatuursverandering. Het blijft dan ook van groot belang deze kwetsbare systemen verder te bestuderen om ze beter te kunnen beschermen, alsook ervoor te zorgen dat er duurzaam mee omgesprongen wordt.

5A. SAMENVATTING

De effecten van de klimaatsverandering en bijgevolg de veranderingen in temperatuur, hebben verschillende gevolgen op ecosystemen over heel de wereld, voornamelijk in en tussen aquatische systemen. Deze gevolgen zijn heel divers, gaande van veranderende levenscyclus-eigenschappen van populaties tot migraties van soorten, onder andere bij Odonata (libellen en juffers). Deze insectenorde fungeert als intermediaire predator in aquatische systemen waarbij ze de zoöplanktonpopulatie in aantal kunnen beperken. Beiden hebben zowel invloed op de primaire producenten (fytoplankton), als op de consumenten in de trofische cascade, waardoor invloeden van de klimaatsverandering op deze soorten en hun interacties grote effecten kan teweegbrengen in dergelijke aquatische systemen, met drastische gevolgen op mens, natuur en milieu.

Aan de hand van een predator-prooi model (de waterjuffer *Ischnura elegans* als predator en de watervlo *Daphnia magna* als prooi), werden mogelijke scenario's ten gevolge van klimaatsveranderingen gesimuleerd, waarbij de dieren uit drie latituden, onder twee temperaturen met hun predator of prooi werden geconfronteerd. Afhankelijk van het relatief effect van temperatuur en/of latitude op predator en prooi, kan de mogelijkheid tot het vinden, vangen en verteren van een prooi door een predator afnemen, toenemen of stabiel blijven. Ook de efficiëntie van een prooi kan variëren afhankelijk van deze factoren. De predatie-experimenten werden telkens uitgevoerd met twee juffers en 60 *Daphnia*, 20 individuen van elke latitude. De overlevende *Daphnia* werden gescreend met allozymes en procentueel vergeleken tussen de verschillende condities.

We toonden aan dat juffers tot 30% meer *Daphnia* aten bij een temperatuurstijging van 4°C (1). We toonden eveneens aan dat juffers van de zuidelijke latituden meer *Daphnia* aten dan de juffers van de noordelijke latituden, die op hun beurt meer *Daphnia* aten dan de juffers van de middelste latituden (2). Bovendien vonden we aanwijzingen dat *Daphnia*, genetisch geadapteerd aan een bepaalde temperatuur en lokale predator, een hogere predatiedruk kunnen ondervinden wanneer ze geconfronteerd worden met een 'vreemde' predator (3) of temperatuur waaraan ze lokaal niet aan geadapteerd zijn (4). We leggen de link met lokale adaptatie van levenscyclus-eigenschappen en bespreken onze resultaten in het kader van de groeiende literatuur en kennis over effecten van klimaatsverandering.

5B. SUMMARY

The effects of global change and consequently changes in temperature, have different impacts on ecosystems around the world, mainly in and between aquatic systems. These consequences are diverse, ranging from changes in life-history traits of populations, to species migrations, including effects in Odonata (dragonflies and damselflies). This order of insects functions as intermediate predator in aquatic systems where they can reduce the number of zooplankton populations. Both can affect the primary producers (phytoplankton) and consumers in the trophic cascade, whereby influences of global change on these species and their interactions can cause large effects in such aquatic systems, with drastic effects on humans, nature and environment.

Using a predator-prey model (the damselfly *Ischnura elegans* as predator and *Daphnia magna* as prey), possible scenarios resulting from climate change were simulated whereat animals from three latitudes, under two temperature conditions were confronted with their predator or prey. Depending on the relative effect of temperature and/or latitude on predator and prey, the ability to find, capture and digest a prey by a predator decreases, increases or remains stable. Also the efficiency of a prey can vary depending on these factors. The predation experiments were always performed with two damselflies and 60 *Daphnia*, 20 individuals of each latitude. The surviving *Daphnia* were screened with allozymes to perform a percentage comparison between the different conditions.

We showed that damselflies consumed up to 30% more *Daphnia* at a temperature rise of 4°C (1). We also demonstrated that damselflies of the southern latitude consumed more *Daphnia* than the damselflies of the northern latitude, which in turn consumed more *Daphnia* than the damselflies of the middle latitude (2). Furthermore, we found evidence that *Daphnia*, genetically adapted to a certain temperature and local predator, may encounter a higher predation pressure when faced with a 'foreign' predator (3) or temperature to which they are not locally adapted to (4). We explain the link with local adaptation of life-history traits and discuss our results in the context of the growing literature and knowledge about the effects of global change.

BIBLIOGRAFIE

2007. STATISTICA (data analysis software system) version 8.0. StatSoft, Inc. www.statsoft.com.
- ABRAHAMS, M. V. & KATTENFELD, M. G. 1997. The role of turbidity as a constraint on predator-prey interactions in aquatic environments. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 40, 169-174.
- ABRAHAMS, M. V., MANGEL, M. & HEDGES, K. 2007. Predator-prey interactions and changing environments: who benefits? *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 362, 2095-2104.
- ACUNA-SOTO, R., STAHL, D. W., THERRELL, M. D., GOMEZ CHAVEZ, S. & CLEVELAND, M. K. 2005. Drought, epidemic disease, and the fall of classic period cultures in Mesoamerica (AD 750-950). Hemorrhagic fevers as a cause of massive population loss. *Medical Hypotheses*, 65, 405-409.
- AGRAWAL, A. A. 1998. Algal defense, grazers, and their interactions in aquatic trophic cascades. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, 19, 331-337.
- ANGILLETTA, M. J. 2009. *Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis*, Oxford: Oxford University Press, pp. 320.
- BEUHLER, M. 2003. Potential impacts of global warming on water resources in southern California. *Water Science and Technology*, 47, 165-168.
- BLASHKI, G., MCMICHAEL, T. & KAROLY, D. J. 2007. Climate change and primary health care. *Australian Family Physician*, 36, 986-989.
- BOON, P. I., BUNN, S. E., GREEN, J. D. & SHIEL, R. J. 1994. Consumption of Cyanobacteria by Fresh-Water Zooplankton - Implications for the Success of Top-down Control of Cyanobacterial Blooms in Australia. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 45, 875-887.
- BOTH, C., VAN ASCH, M., BIJLSMA, R. G., VAN DEN BURG, A. B. & VISSER, M. E. 2009. Climate change and unequal phenological changes across four trophic levels: constraints or adaptations? *Journal of Animal Ecology*, 78, 73-83.
- BOTH, C. & VISSER, M. E. 2001. Adjustment to climate change is constrained by arrival date in a long-distance migrant bird. *Nature*, 411, 296-298.
- BOUCHARD, R. W. 2009. *Guide to Aquatic Invertebrate Families of Mongolia Chapter 5: ODONATA*, St Paul: University of Minnesota, pp. 212.
- BRAUNE, E., RICHTER, O., SÖNDGERATH, D. & SUHLING, F. 2008. Voltinism flexibility of a riverine dragonfly along thermal gradients. *Global Change Biology*, 14, 470-482.
- BRODIE, E. D. & BRODIE, E. D. J. 1999. Predator-Prey Arms Races: Asymmetrical selection on predators and prey may be reduced when prey are dangerous. *American Institute of Biological Sciences*, 49, 557-568.
- BROHAN, P., KENNEDY, J. J., HARRIS, I., TETT, S. F. B. & JONES, P. D. 2006. Uncertainty estimates in regional and global observed temperature changes: a new dataset from 1850. *Journal of Geophysical Research*, 111, 1582-1588.
- BROUWERS, J. 2010. Evolutie aantal zware overstromingen. *MIRA - rapport*, pp. 2.

- CARVALHO, G. R. 1987. The clonal ecology of *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera): II. Thermal differentiation among seasonal clones. *Journal of Animal Ecology*, 56, 469-478.
- CHATTOPADHAYAY, J., SARKAR, R. R. & MANDAL, S. 2002. Toxin-producing plankton may act as a biological control for planktonic blooms--field study and mathematical modelling. *Journal of Theoretical Biology*, 215, 333-344.
- CHIVERS, D. P. & SMITH, R. J. F. 1997. Chemical alarm signalling in aquatic predator-prey system: A review and prospects. *Ecoscience*, 5, 338-352.
- CLARK, J. S. & MCLACHLAN, J. S. 2003. Stability of forest biodiversity. *Nature*, 423, 635-8.
- COLE, D. N. & LANDRES, P. B. 1996. Threats to Wilderness Ecosystems: Impacts and Research Needs. *Ecological Applications*, 6, 168-184.
- CORBET, P. S., SUHLING, F. & SÖNDGERATH, D. 2006. Voltinism of Odonata: a review. *International Journal of Odonatology*, 9, 1-44.
- CREEL, S. & CHRISTIANSON, D. 2008. Relationships between direct predation and risk effects. *Trends in Ecology & Evolution*, 23, 194-200.
- DAUFRESNE, M., LENGFELLNER, K. & SOMMER, U. 2009. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 12788-12793.
- DAWKINS, R. & KREBS, J. R. 1979. Arms Races between and within Species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 205, 489-511.
- DE BLOCK, M. & STOKS, R. 2003. Adaptive sex-specific life history plasticity to temperature and photoperiod in a damselfly. *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 986-995.
- DECLERCK, S., COUSYN, C. & DE MEESTER, L. 2001. Evidence for local adaptation in neighbouring *Daphnia* populations: a laboratory transplant experiment. *Freshwater Biology*, 46, 187-198.
- DIJKSTRA, K. D. B. & LEWINGTON, R. 2006. *Field guide to the dragonflies of Britain and Europe*, Gillingham: British Wildlife Publishing LTD, pp. 320.
- DREISIG, H. 1981. The rate of predation and its temperature dependence in a tiger beetle, *Cicindela hybrida*. *Oikos*, 36.
- DUNLOP, J. M. 1991. Blooming algae. *British Medical Journal*, 302, 671-672.
- EBERT, D. 2005. *Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in Daphnia*, Bethesda: National Center for Biotechnology Information, pp. 110.
- FLENNER, I. & SAHLÉN, G. 2008. Dragonfly community reorganisation in boreal forest lakes: rapid species turnover driven by climate change? *Insect Conservation and Diversity*, 1, 169-179.
- GILBERT, N. & RAWORTH, D. A. 1996. Insects and temperature - a general theory. *Canadian Entomologist*, 128, 1-13.
- GLIWICZ, Z. M. & MASZCZYK, P. 2007. *Daphnia* growth is hindered by chemical information on predation risk at high but not at low food levels. *Oecologia*, 150, 706-15.

- GUPTA, R. K. 2002. Water and energy linkages for groundwater exploitation: a case study of Gujarat State, India. *Water Science and Technology*, 45, 151-166.
- HAAGSMA, J. 1991. Pathogenic anaerobic bacteria and the environment. *Revue Scientifique et Technique*, 10, 749-764.
- HALL, J. W., SAYERS, P. B., WALKDEN, M. J. & PANZERI, M. 2006. Impacts of climate change on coastal flood risk in England and Wales: 2030-2100. *Philosophical Transactions. Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*, 364, 1027-1049.
- HANAZATO, T. 2001. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environment Pollution*, 112, 1-10.
- HARMON, J. P., MORAN, N. A. & IVES, A. R. 2009. Species response to environmental change: impacts of food web interactions and evolution. *Science*, 323, 1347-1350.
- HASSAL, C. & THOMPSON, D. J. 2008. The effects of environmental warming on Odonata: a review. *International Journal of Odonatology*, 11, 131-153.
- HAVEL, J. E. 1987. Predator induced defences: a review. *Predation: Direct and indirect impacts on aquatic communities*. Hanover: University Press of New England, 263-278.
- HEBERT, P. D. N. & BEATON, M. J. 1993. *Methodologies for allozymes analysis using cellulose acetate electrophoresis: a practical handbook*, Beaumont: Helena Laboratories, pp. 39.
- HELLER, N. E. & ZAVALETA, E. S. 2009. Biodiversity management in the face of climate change: A review of 22 years of recommendations. *Biological Conservation*, 142, 14-32.
- HERENDEEN, R. A. 2003. Bottom-up and top-down effects in food chains depend on functional dependence: an explicit framework. *Ecological Modelling*, 171, 21-33
- HICKLING, R., ROY, D. B., HILL, J. K., FOX, R. & THOMAS, C. D. 2006. The distribution of a wide range of taxonomic groups are expanding polewards. *Global Change Biology*, 12, 450-455.
- HICKLING, R., ROY, D. B., HILL, J. K. & THOMAS, C. D. 2005. A northward shift of range margins in British Odonata. *Global Change Biology*, 11, 502-506.
- HIETALA, J., LAURENMAATTA, C. & WALLS, M. 1997. Life history responses of *Daphnia* clones to toxic *Microcystis* at different food levels. *Journal of Plankton Research*, 19, 917-926.
- HUEY, R. B. & KINGSOLVER, J. G. 1989. Evolution of thermal sensitivity of ectotherm performance. *Trends in Ecology & Evolution*, 4, 131-135.
- HUISMAN, J., MATTHIJS, H. C. P. & VISSER, P. M. 2005. *Harmful cyanobacteria*, Dordrecht: Springer, pp. 241.
- JIGUET, F., BROTONS, L. & DEVICTOR, V. 2011. Community responses to extreme climatic conditions. *Current Zoology*, 57, 406-413.
- JOHNSON, D. M., AKRE, B. G. & CROWLEY, P. H. 1975. Modeling Arthropod Predation: Wasteful Killing by Damselfly Naiads. *Ecology*, 56, 1081-1093.
- KATS, L. B. & DILL, L. M. 1998. The scent of death: Chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience*, 5, 361-394.

- KIRBY, R. R. & BEAUGRAND, G. 2009. Trophic amplification of climate warming. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276, 4095-4103.
- KNIGHT, T. M., MCCOY, M. W., CHASE, J. M., MCKOY, K. A. & HOLT, R. D. 2005. Trophic cascades across ecosystems. *Nature*, 437, 880-883.
- KRUSE, P. D., TOFT, S. & SUNDERLAND, K. D. 2008. Temperature and prey capture: opposite relationships in two predator taxa. *Ecological Entomology*, 33, 305-312.
- LAMPERT, W. 1993. Ultimate causes of diel vertical migration of zooplankton: new evidence for the predator avoidance hypothesis. *Archiv für Hydrobiologie, Beiheft Ergebnisse der Limnologie*, 39, 79-88.
- LAU, C. L., SMYTHE, L. D., CRAIG, S. B. & WEINSTEIN, P. 2010. Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: fuelling the fire? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 104, 631-638.
- LAWRENCE, D., D'ODORICO, P., DIEKMANN, L., DELONGE, M., DAS, R. & EATON, J. 2007. Ecological feedbacks following deforestation create the potential for a catastrophic ecosystem shift in tropical dry forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 20696-20701.
- LEIBOLD, M. A., HOLYOAK, M., MOUQUET, N., AMARASEKARE, P., CHASE, J. M., HOOPEES, M. F., HOLT, R. D., SHURIN, J. B., LAW, R., TILMAN, D., LOREAU, M. & GONZALEZ, A. 2004. The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology Letters*, 7, 601-613.
- LISTER, A. M. & STUART, A. J. 2008. The impact of climate change on large mammal distribution and extinction: Evidence from the last glacial/interglacial transition. *Comptes Rendus Geoscience*, 340, 615-620.
- MAY, M. 1985. Thermoregulation. *Annual Review of Entomology*, 24, 313-318.
- MCGREGOR-LOWNDES, M. & SCAIFE, W. 2008. "Of droughts and flooding rains": philanthropy for health and medical research. *Medical Journal of Australia*, 188, 631-632.
- MCGREGOR, D. F. M., DODMAN, D., BARKER, D. & BAILEY, S. 2009. *Global change and Caribbean vulnerability : environment, economy and society at risk*, Kingston: University of the West Indies Press, pp. 389.
- MCLACHLAN, J. S., HELLMANN, J. J. & SCHWARTZ, M. W. 2007. A Framework for Debate of Assisted Migration in an Era of Climate Change. *Conservation Biology*, 21, 297-302.
- MCMICHAEL, P. 2004. *Development and social change: a global perspective*, California: Pine Forge Press, pp. 359.
- MITCHELL & LAMPERT 2000. Temperature adaptation in a geographically widespread zooplankter, *Daphnia magna*. *Journal of Evolutionary Biology*, 13, 371-382.
- MOHAGHEGH, J., DE CLERQ, P. & TIRRY, L. 2001. Functional response of the predators *Podisus maculiventris* and *Podisus nigrispinus* to the beet armyworm, *Spodoptera exigua*: effect of temperature. *Journal of Applied Entomology*, 125, 131-134.
- PACHAURI, R. K. & REISINGER, A. 2007. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *IPCC, Fourth Assessment Report*, pp. 104.

- PALUMBI, S. R. 2001. Humans as the world's greatest evolutionary force. *Science*, 293, 1786-1790.
- PARMESAN, C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 637-669.
- PARMESAN, C., RYRHOLM, N., STEFANESCU, C., HILL, J. K., THOMAS, C. D., DESCIMON, H., HUNTLEY, B., KAILA, L., KULLBERG, J., TAMMARU, T., TENNENT, W. J., THOMAS, J. A. & WARREN, M. 1999. Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature*, 399, 579-583.
- PEARSON, R. G. 2006. Climate change and the migration capacity of species. *Trends in Ecology & Evolution*, 21, 111-113.
- PELLETIER, F., GARANT, D. & HENDRY, A. P. 2009. Eco-evolutionary dynamics. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 364, 1483-1489.
- PIMENTEL, D., ZUNIGA, R. & MORRISON, D. 2005. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics*, 52, 273-288.
- PINTO, J., BONACIC, C., HAMILTON-WEST, C., ROMERO, J. & LUBROTH, J. 2008. Climate change and animal diseases in South America. *Revue Scientifique et Technique*, 27, 599-613.
- PIRES, L. M. D., IBELINGS, B. W., BREHM, M. & VAN DONK, E. 2005. Comparing grazing on lake seston by *Dreissena* and *Daphnia*: Lessons for biomanipulation. *Microbial Ecology*, 50, 242-252.
- PROWSE, T. D., WRONA, F. J., REIST, J. D., GIBSON, J. J., HOBBIE, J. E., LEVESQUE, L. M. & VINCENT, W. F. 2006. Climate change effects on hydroecology of arctic freshwater ecosystems. *Ambio*, 35, 347-58.
- REES, W. E. 2003. Economic development and environmental protection: an ecological economics perspective. *Environmental Monitoring and Assessment*, 86, 29-45.
- RIESSEN, H. P. 1992. Cost-benefit model for the induction of an antipredator defense. *American Naturalist*, 140, 349-62.
- RINKE, K. & VIJVERBERG, J. 2005. A model approach to evaluate the effect of temperature and food concentration on individual life-history and population dynamics of *Daphnia*. *Ecological Modelling*, 186, 326-344.
- ROBB, T. & ABRAHAM, M. V. 2003. Variation in tolerance to hypoxia in a predator and prey species: an ecological advantage of being small? *Fish Biology*, 62, 1067-1081.
- ROBERTSON, H. M. & PATERSON, H. E. H. 1982. Mate recognition and mechanical isolation in *Enallagma* damselflies (Odonata: Coenagrionidae). *Evolution*, 36, 243-250.
- RODRÍGUEZ-TRELLES, F. & RODRÍGUEZ, M. A. 1998. Rapid micro-evolution and loss of chromosomal diversity in *Drosophila* in response to climate warming. *Evolutionary Ecology*, 12, 829-838.
- SARNELLE, O. 1993. Herbivore Effects on Phytoplankton Succession in a Eutrophic Lake. *Ecological Monographs*, 63, 129-149.
- SCHMALHOFER, V. R. & CASEY, T. M. 1999. Crab spider hunting performance is temperature insensitive. *Ecological Entomology*, 24, 345-353.

- SENHORST, H. A. & ZWOLSMAN, J. J. 2005. Climate change and effects on water quality: a first impression. *Water Science and Technology*, 51, 53-59.
- SHAMA, L. N. S., CAMPERO-PAZ, M., WEGNER, K. M., DE BLOCK, M. & STOKS, R. in press. Latitudinal and voltinism compensation shape thermal reaction norms for growth rate (in press).
- SMITH, L. C., SHENG, Y. W., FORSTER, R. R., STEFFEN, K., FREY, K. E. & ALSDORF, D. E. 2003. Melting of small Arctic ice caps observed from ERS scatterometer time series. *Geophysical Research Letters*, 30, 1-4.
- SPRAY, S. L. & MCGLOTHLIN, K. L. 2003. *Loss of biodiversity*, Maryland: Rowman & Littlefield, pp. 179.
- SPRENGER, C., LORENZEN, G., HULSHOFF, I., GRUTZMACHER, G., RONGHANG, M. & PEKDEGER, A. 2011. Vulnerability of bank filtration systems to climate change. *Science of the Total Environment*, 409, 655-663.
- STRZEPEK, K., YOHE, G., NEUMANN, J. & BOEHLERT, B. 2010. Characterizing changes in drought risk for the United States from climate change. *Environmental Research Letters*, 5, 9.
- THOMAS, C. D., CAMERON, A., GREEN, R. E., BAKKENES, M., BEAUMONT, L. J., COLLINGHAM, Y. C., ERASMUS, B. F. N., DE SIQUEIRA, M. F., GRAINGER, A., HANNAH, L., HUGHES, L., HUNTLEY, B., VAN JAARSVELD, A. S., MIDGLEY, G. F., MILES, L., ORTEGA-HUERTA, M. A., PETERSON, A. T., PHILLIPS, O. L. & WILLIAMS, S. E. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature*, 427, 145-148.
- THOMPSON, D. J. 1978. Towards a Realistic Predator-Prey Model: The Effect of Temperature on the Functional Response and Life History of Larvae of the Damselfly, *Ischnura elegans*. *Journal of Animal Ecology*, 47, 757-767.
- VITOUSEK, P. M. 1994. Beyond Global Warming: Ecology and Global Change. *Ecology*, 75, 1861-1876.
- WALTHER, G. R., POST, E., CONVEY, P., MENZEL, A., PARMESAN, C., BEEBEE, T. J., FROMENTIN, J. M., HOEGH-GULDBERG, O. & BAIRLEIN, F. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature*, 416, 389-95.
- WEIDER, L. J. & PIJANOWSKA, I. 1993. Plasticity of *Daphnia* life-histories in response to chemical cues from predators. *Oikos*, 67, 385-392.
- WESTERLING, A. L., HIDALGO, H. G., CAYAN, D. R. & SWETNAM, T. W. 2006. Warming and earlier spring increase western U.S. forest wildfire activity. *Science*, 313, 940-943.
- WILSON, R. J., DAVIES, Z. G. & THOMAS, C. D. 2009. Modelling the effect of habitat fragmentation on range expansion in a butterfly. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 276, 1421-1427.
- WINDER, M. & SCHINDLER, D. E. 2004. Climate change uncouples trophic interactions in an aquatic ecosystem. *Ecology*, 85, 2100-2106.
- WINDER, M., SPAAK, P. & MOOIJ, W. M. 2004. Trade-offs in *Daphnia* habitat selection. *Ecology*, 85, 2027-2036.
- WU, J. Z., LI, B. & ZHANG, X. S. 2007. Ecosystem service value and its application in evaluation of eco-economic harmonious development. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 18, 2554-2558.

- WU, N., GAO, J. X., SUDEBILIGE, RICKETTS, T. H., OLWERO, N. & LUO, Z. L. 2010. Evaluation of ecosystem provisioning service and its economic value. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 21, 409-414.
- XENOPOULOS, M. A. & LODGE, D. M. 2006. Going with the flow: using species-discharge relationships to forecast losses in fish biodiversity. *Ecology*, 87, 1907-1914.
- ZEIS, B., MAURER, J., PINKHAUS, O., BONGARTZ, E. & PAUL, R. J. 2004. A swimming activity assay shows that the thermal tolerance of *Daphnia magna* is influenced by temperature acclimation. *Canadian Journal of Zoology*, 82, 1605-1613.

	Maandag	Dinsdag	Woensdag	Donderdag	Vrijdag	Zaterdag	Zondag
F0 checken	F0 checken J24	F0 checken J20	F0 checken J24	F0 checken J20	F0 checken J24	F0 checken J20	
Emmer-exp. 24°C	kuisen D24 en broed verwijderen		kuisen D24 broed verzamelen D24 (van ma en di)		kuisen D24 en broed verwijderen		broed verzamelen D24 (van vrij en zat)
		Trials met D24 (zon) en J24 (vrij/woe)			Trials met D24 (woe) en J24 (ma)		
Emmer-exp. 20°C	kuisen D20 en broed verwijderen		kuisen D20 broed verzamelen (van ma en di)		kuisen D20 broed verzamelen D20 (van woe en don)		broed verzamelen D20 (van vrij en zat)
		Trials met D20 (vrij) en J20 (di)	Trials met D20 (zon) en J20 (do)		Trials met D20 (woe) en J20 (zat)		

Figuur 17: wekelijkse planning. Gelijke kleuren geven experimenten aan met dezelfde organismen. In de emmerexperimenten bij 20°C worden *Daphnia* gebruikt van 4 à 5 dagen oud en juffers van 6 dagen in F-0. In de emmerexperimenten bij 24°C worden *Daphnia* gebruikt van 3 à 4 dagen oud en juffers van 5 dagen in F-0 (D24/D20: *Daphnia* in 24°C/ 20°C, J24/J20: juffer in 24°C/20°C).