



Predatorinducerad fekunditet hos *Daphnia pulex* vid simulerade årstidsbundna temperaturvariationer

Predator induced fecundity in simulated seasonal temperature variations in
Daphnia pulex

Åsa Berggren

Fakulteten för hälsa, natur- och teknikvetenskap

Biologi

D-uppsats / 30 hp

Handledare: Eva Bergman

Examinator: Larry Greenberg

2015-06-29

Löpnummer: 15:126

Abstract

Female growth, number of eggs and egg growth of *Daphnia pulex* were studied at four temperatures, 12, 16, 18 and 20°C. I hypothesized that female growth and number of eggs would be lower and the size of the eggs larger in the presence of a predator (kairomones) than in its absence. This effect was expected to be more evident at lower temperatures. I could not find any effect of kairomones on female growth, number of eggs or egg size, although there was a weak tendency for an effect on number of eggs. There was, however, an effect of temperature, regardless of predator treatment (i. e. presence vs absence of kairomones), on number of eggs, where females produced fewer numbers of eggs with increasing temperature. The effect temperature on the number of eggs was not anticipated. Two of the temperatures, 12 and 18°C, were carried out in darkness due to malfunctioning equipment. In addition, for some unknown reason, a high ratio between the number of ephippia and eggs occurred at 16 and 18°C, regardless of predator treatment. These complicating factors (darkness and ephippia) can have had a negative effect on detecting a response by *Daphnia* to kairomones.

Sammanfattning

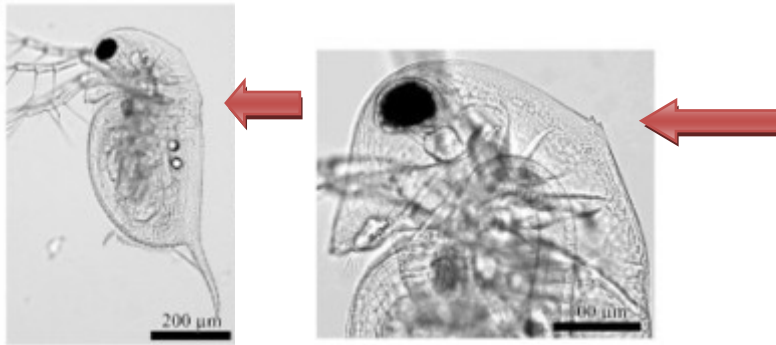
Honors tillväxt, antal ägg och äggens tillväxt hos *Daphnia pulex* studerades vid fyra olika temperaturer, 12, 16, 18 och 20°C. Min hypotes var att honorna tillväxer mindre och producerar färre ägg, men med större storlek vid närvaro av predator (kairomoner) än utan. Denna effekt förväntades bli tydligare med lägre temperatur. Jag kunde inte påvisa någon effekt av kairomoner varken på honors tillväxt, antal ägg eller storlek på ägg, men det fanns en svag effekt på antalet ägg. Det fanns dock en effekt av temperaturen på antalet ägg oberoende av predatorbehandling (med respektive utan kairomoner), där honorna bildade färre antal ägg med ökande temperatur. Effekten av temperatur på antalet ägg var inte som väntat. Två av temperaturerna, 12 och 18 °C, kördes i mörker pga icke fungerande utrustning. Dessutom, av okänd anledning, var förhållandet mellan antal ephippier och ägg högt vid 16 och 18 °C. Dessa komplicerande faktorer, mörker och andel viloägg, kan ha påverkat den uteblivna effekten av predatorbehandlingen.

Inledning

Många bytesdjur i ett djurplanktonsamhälle är kapabla att känna av en predators närvaro genom kemiska substanser, vilka antingen utsöndras direkt av predatorn eller av ett skadat byte. Dessa predatorutsöndrade substanser kallas kairomoner. Substanser som kommer ifrån bytesdjuret fungerar som en "alarm substans" som uppfattas av individer av samma art och utlöser flyktbeteende. Vissa bytesdjurarter svarar även på dessa kemiska substanser under en längre tidsperiod genom att förändra beteende, ändra sin morfologi eller få en påverkan på reproduktionen (Brönmark och Hansson, 1998; Lawrence 1991; Walls och Ventelä, 1998; Black, 1993).

Ett flertal Daphniaarter bildar nacktänder, så kallad mössa eller hjälm eller andra morfologiska förändringar (Fig. 1). Dessa förändringar ger individerna en större chans att undkomma predatorattack och kallas inducerat försvar (Lampert och Sommer, 1997; Spitze, 1992). Nacktandbildning, t. ex., består i bildning av ett flertal små nacktänder/utskott och en förändring i hela nackregionen, vilket leder till att nackregionen förstoras (Tollrian, 1994). Värt att notera är att vissa av dessa morfologiska förändringar även sker normalt under årets cykel ute i naturen, men att de även kan induceras genom närvaro av predator. Hur en art ser ut vintertid kan skilja sig mycket från hur den ser ut sommartid. Detta kallas cyklomorfos, då det sker i en cykel över året. Även den predatorinducerade morfologiska förändringen kallas cyklomorfos. Eftersom dessa morfologiska förändringar även sker i närvaro av predator kan slutsatsen dras att de innebär en kostnad för individerna (Lampert, 1997). Om det inte skulle innebära någon kostnad skulle det inducerade försvaret vara fixerat. Denna kostnad kan även uttryckas i minskad tillväxt och försenad eller minskad reproduktionsframgång (Spitze, 1991; Lüning 1995; Havel och Dodson 1987).

Fig. 1. Bild på *D.pulex* med nacktänder. Pilen pekar på nacktänderna.



Kopplingen mellan cyklomorfofen och fekunditeten ligger i att det för individerna innebär en avvägning mellan kostnad och vinst att cyklomorfera eller inte och att välja reproduktion jämfört med att endast försöka överleva vid närvaro av predator. Eftersom cyklomorfofen sker under olika delar av året kan man vänta sig skillnader vid olika temperaturer. Djurplanktons reproduktion förväntas påverkas av denna koppling då de är ektotermer (temperaturberoende). Honor släpper sin avkomma när de uppnått en större storlek i vatten med högre temperatur än i vatten med lägre temperatur (Walls och Venteläs 1998). Walls och Venteläs (1998) undersökning går bland annat ut på att ta reda på om honorna satsar mer energi på att tillväxa så de lättare undkommer predatorer eller om de satsar på att föröka sig i så stor utsträckning som möjligt i närvaro eller frånvaro av predator. Eftersom *D. pulex* är ektoterma, påverkar lägre temperatur dess fitness negativt. Detta kan resultera i ett minskat energiupptag och därmed orsaka fitness-skillnader hos djur som exponeras för olika temperaturer och predator densiteter (Walls och Ventelä, 1998).

Syftet med denna studie är att studera hur temperatur påverkar olika mått på fekunditet i närvaron och frånvaron av en predator (predatorlukt som kallas för kairomoner). Min hypotes är att honorna tillväxer mindre och producerar färre ägg, men med större storlek vid närvaro av predator/kairomoner än vid frånvaron av en predator. Denna effekt blir tydligare med lägre temperatur. Honor förväntas alltså satsa mer på att föda upp ett fåtal, stora avkommor än på att själva växa sig större vid närvaro av kairomoner. Ju lägre temperatur desto tydligare förväntas denna effekt vara.

Material och metod

Artbeskrivning

Daphnia pulex kropp har ett hårt exoskelett av kitin och kalciumkarbonat. Periodvis ömsar de skal och bildar ett större skal att växa i. Dessa vattenloppor, som de också kallas är filtrerare och äter i huvudsak alger. Precis som andra evertebrater följer *Daphnias* storlek på populationen årstidsväxlingarna i tillgången på föda. På den dorsala sidan av *Daphnia* finns en yngelkammare, där honan förvarar ägg tills de kläcks och släpps ut i vattnet (Fig.2). Cladocera har förmågan att reproducera sig parthenogetetiskt, vilket innebär att honorna bildar genetiska kopior av sig själv. Parthenogenesen fortsätter tills förhållandena inte längre är fördelaktiga, vilket kan vara till exempel en allt för stor population eller drastisk minskning i födotillgång. Då utvecklas vissa ägg till hanar och andra till haploida ägg som kräver befruktning. Efter befruktning tjocknar honans väggar i yngelkammaren och så kallade ehippior eller viloägg bildas. Dessa viloägg är mycket tåliga. De tål till exempel frysning och uttorkning. När förhållandena är fördelaktiga kläcks ehippierna till honor och parthenogenesen påbörjas på nytt (Brönmark och Hansson, 1998).

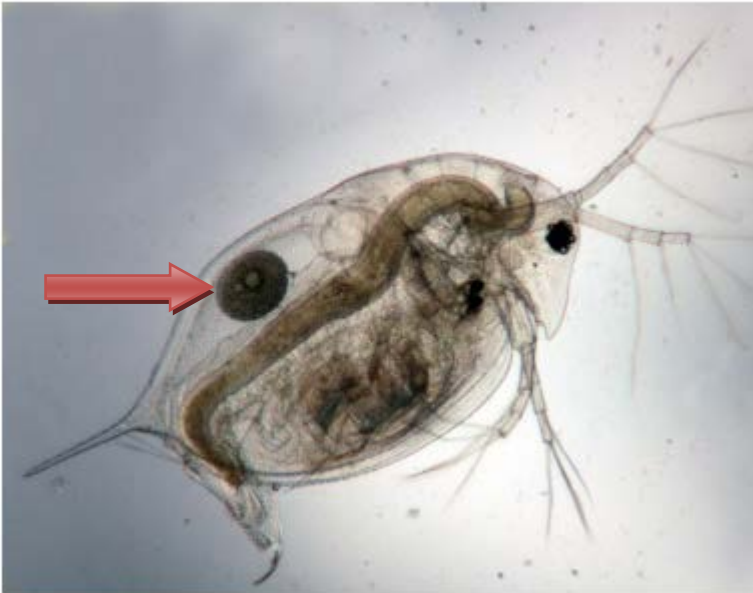


Fig. 2. Bild på *D. pulex* utan nacktänder. Pilen pekar på ett ägg placerat i yngelkammaren.

Material

Till experimentet användes material som Institutionen för natur och miljö på Karlstads Universitet och den intilliggande naturen tillhandahöll. *Daphnia pulex* och predatoren *Chaoborus* (Fig. 3) håvades från två dammar i västra Karlstad i början av september 2001. Dessa två arter sorterades från andra evertebrater med hjälp av stereolupp och ljusmikroskop (Sandhall och Berggren 1981).

Daphnia pulex och *Chaoborus* placerades separat i femliters plastakvarier med två liter artificiellt hårt vatten (Bilaga 1). *Daphnia pulex* gick i fyra separata akvarier i rumstemperatur. För att tillgången på föda inte skulle vara begränsande matades *D. pulex* med en hög koncentration av födan, Sera micron (5 mg Sera micron per ml destillerat vatten eller 25 mg Sera micron per liter akvarievatten), innan och under (varje dag) försökets gång. För att mäta individerna, räkna antal ägg samt mäta äggen användes ljusmikroskop med 40 gångers förstoring, utrustat med mätokular.

För att hålla rätt temperatur (12, 16, 18 resp. 20°C) under försökets gång användes ett värmeskåp med kylande funktion. Detta skåp var även utrustat med lysrör och timer, så antal ljusa och mörka timmar kunde ställas (L12: D12). Lampan i värmeskåpet gick sönder efter halva försöket. Försöken vid 12 och 18 °C pågick därför helt i mörker.



Fig. 3. Bild på en av *D.pulex* predator, *Chaoborus* larv.

Pilotförsök

Ett pilotförsök utfördes med avseende på reproduktion. För att försöka fastställa hur länge en hona bär sina ägg innan larverna lämnar honans kropp, placerades en *D. pulex*-hona utan ägg i en burk, vilken kontrollerades varje dag. Denna tid varierade mellan två till fyra dygn. Testning av hur honorna reagerade i olika temperaturer visade att de i princip bara bildade viloägg vid temperatur lägre än 10°C. Därmed valdes 12°C som den lägsta temperatur till experimentet. Den högsta temperatur som användes var 20°C.

Experimentet

Tillväxten och reproduktionen studerades i fyra temperaturer; 12, 16, 18 och 20°C. För att uppnå rätt temperatur användes ett värmeskåp med kylande funktion och ljustimer. Innan experimentets start aklimatiserades *D. pulex* och predator till experimenttemperatur under tre till fyra dygn. Under hela tiden fram till experimentets start gick *D. pulex* och *Chaoborus* var för sig i olika akvarier med samma sorts vatten. Alla djur som skulle vara med i experimentet fanns i ett separat kar som gradvis fick temperaturen sänkt. Experimentet pågick i följande turordning med avseende på temperatur: först 20°C följt av 16°C, 12°C och sist 18°C. Ordningen bestämdes genom lottdragning innan försöket startade. *Chaoborus*-tätheten var ca 50 djur per liter, vilket är högre än i Walls och Venteläs (1998) försök. Urvalet av storleken på de *D. pulex* individer som var med i experimentet gjordes med hjälp av såll med maskstorlek 1000, 850 och 500 µm. Individer från 850 µm sållan användes i undersökningen. Individer i denna storlek passade bra att mäta i mikroskopet med mätokularet och många av dem innehöll ägg. Tillväxten redovisas i antal markeringar i mätokularet och benämns som antal enheter fortsättningsvis. Större individer fick inte plats i okularets mått och för mindre individer hade ett noggrannare mätokular behövts.

Tolv burkar med tio individer i varje användes för varje temperatur. Hälften av burkarna innehöll tempererat artificiellt vatten som *Chaoborus* gått i, det vill säga med kairomoner och andra hälften tempererat rent artificiellt hårt vatten (Tabell 1). För att undvika svårigheter med för många avlidna adulta individer, individer som släppt ut sina ägg samt uppväxta avkommor och därmed kunna räkna statistik på resultaten pågick experimentet i två dygn oavsett temperatur.

Tabell 1. Försöksuppställning för experimentet. I fyra olika temperaturer utsattes *D. pulex* honor för kairomoner. Kontrollhonorna (utan kairomoner) gick med i samma temperatur.

Temperatur (°C)	Med kairomoner	Utan kairomoner
12	6 burkar med 10 individer i varje burk	6 burkar med 10 individer i varje burk
16	6 burkar med 10 individer i varje burk	6 burkar med 10 individer i varje burk
18	6 burkar med 10 individer i varje burk	6 burkar med 10 individer i varje burk
20	6 burkar med 10 individer i varje burk	6 burkar med 10 individer i varje burk

Endast en temperatur i taget kunde testas. Detta på grund av att det endast fanns ett värmeskåp med kylande funktion att tillgå. Därmed var det tvunget att ha de olika temperaturerna efter varandra i tid.

På dag 1 sållades *D. pulex* för att få tag på individer av rätt storlek som skulle användas i experimentet. Tio gånger sex individer valdes slumpmässigt ut av de individer som fastnat i 850 µm-sållen. Dessa individer mättes från hjässan till toppen på spinan och deras ägg räknades och mättes med hjälp av mikroskopet, utrustat med mätokular. Eftersom äggen var i stort sett helt runda mättes de tvärs över. Därefter släpptes de i tio och tio i varje väl märkt burk. Hälften av burkarna innehöll 50 ml artificiellt hårt vatten och hälften innehöll 50 ml artificiellt hårt vatten som *Chaoborus* hade vistats i. Även under experimentet matades djuren dagligen med samma föda med samma koncentration, alltså 25 mg Sera micron per liter. Efter utfodring ställdes burkarna med djuren tillbaka i inkubatorn med temperaturen de acklimatiserats i och experimentet fortsatte.

Efter två dygn togs individerna upp ur vattnet, mättes och deras ägg räknades och mättes. Inga individer fick vara med i experimentet fler än en gång.

Hornas längd, antal ägg och äggens längd skrevs in i tabeller i Microsoft Excel. För varje variabel räknades ut förändringen över tid (differensen över 2 dagar). Dessa skillnader sedan användes analyserades efter \log_{10} transformering (för att få lika varianser) med 2-vägs ANOVA med replikering samt regression i Excel.

Resultat

Honornas tillväxt

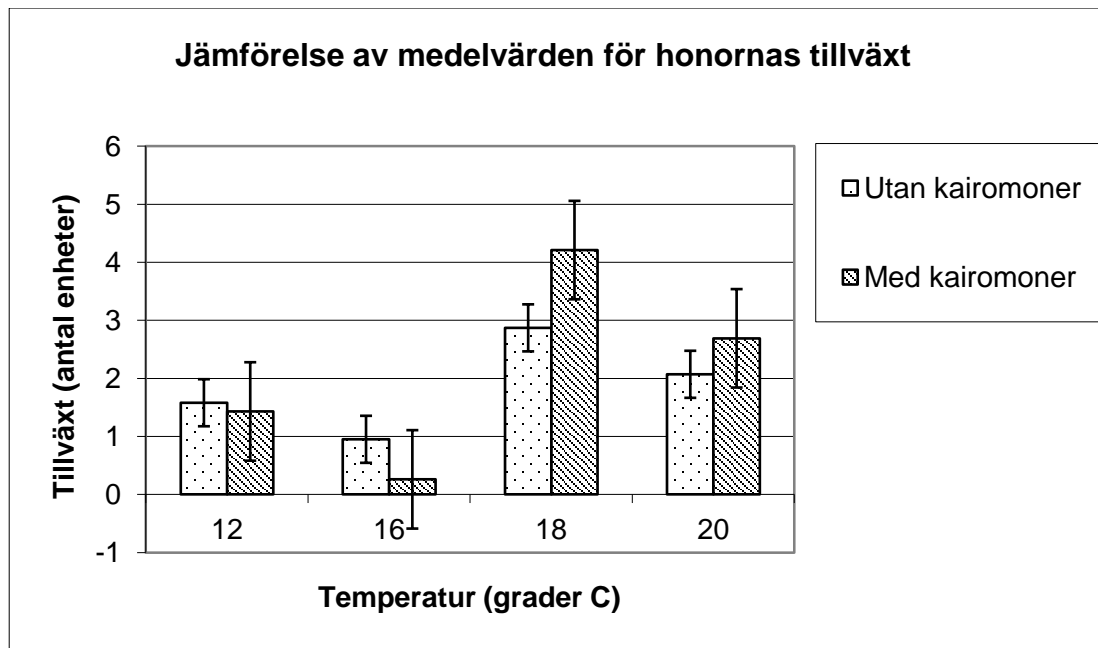


Fig. 4. Honornas tillväxt i medeltal \pm 1 standard avvikelse vid de olika behandlingarna (med och utan kairomoner) vid de fyra olika temperaturerna.

Tillväxten hos honorna var störst vid 18°C och längst vid 16°C oavsett närvaro eller frånvaro av kairomoner (Fig. 4). Det är även vid 18°C som störst skillnad i tillväxt mellan de honor som gått i vatten med respektive utan kairomoner fanns. Honor i kairomonbehandlingen hade en större tillväxt i de två högre temperaturerna jämfört med kontrollhonorna. För de två lägre temperaturerna är förhållandet tvärsom. Ingen signifikant skillnad kunde påvisas, varken på temperaturens inverkan eller på behandling (med respektive utan kairomoner, Tabell 2). Interaktionen mellan temperatur och behandling (med/utan kairomoner) påverkades inte heller signifikant.

Tabell 2. Resultat för 2-vägs ANOVA med replikering för honornas tillväxt, antal ägg per hona samt äggens tillväxt. Signifikanta skillnader visas i fetstil.

	Variation	F-värde	P-värde	df-värde
Honors tillväxt	Temperatur	0,16	0,95	3, 40
	Med/Utan kairomoner	0,19	0,67	3, 40
	Interaktion	0,01	0,96	3, 40
Antal ägg per hona	Temperatur	5,47	0,003	1, 40
	Med/Utan kairomoner	2,83	0,10	1, 40
	Interaktion	1,20	0,32	1, 40
Äggens tillväxt	Temperatur	0,51	0,68	3, 40
	Med/Utan kairomoner	0,13	0,21	3, 40
	Interaktion	0,09	0,40	3, 40

Antal ägg per hona

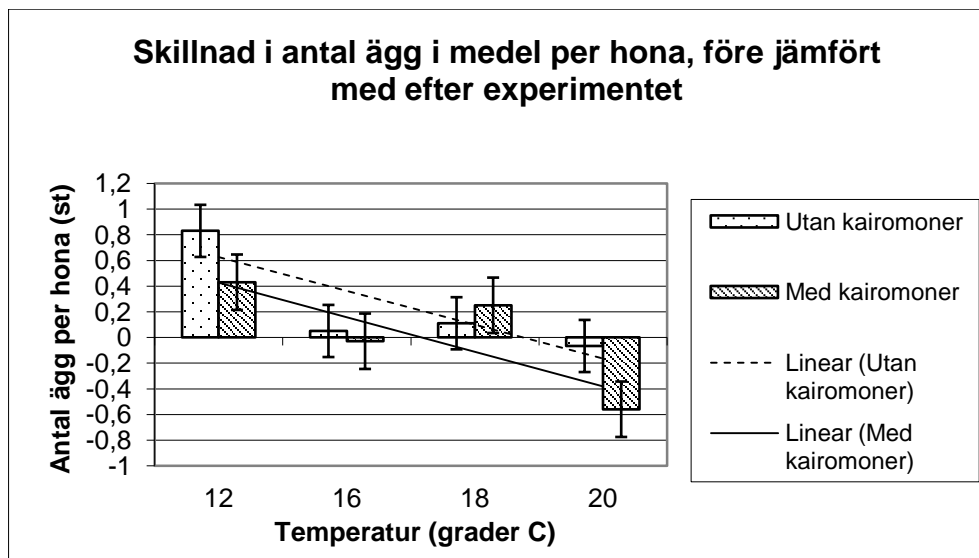


Fig. 5. Antal ägg per hona i medeltal \pm 1 standard avvikelse vid start jämfört med vid avslut för de fyra temperaturerna, med och utan kairomoner. Negativa tal betyder att honorna hade fler ägg vid start än vid slutet av experimentet.

Antal ägg räknades i honorna precis innan experimentet började och vid avbrytandet av det. För alla temperaturer utom 18 °C har honorna bildat färre antal ägg vid närvaro av kairomoner jämfört med kontrollhonorna (Fig. 5). Totalt sett bildade honorna få antal ägg vid 16 och 18 °C. Endast temperaturen hade signifikant effekt på antal ägg (Tabell 2). Honorna bildade fler antal ägg ju lägre temperaturen var, oavsett utan eller med kairomoner. Kairomonbehandling hade ingen effekt på antal ägg som honorna producerades, även om det fanns en svag tendens för honorna att bilda ett färre antal ägg vid närvaro än vid frånvaro av kairomoner ($P = 0,10$, Tabell 2). Interaktionen mellan temperatur och behandling påverkades inte heller (Tabell 2). För att titta närmare på den signifikanta effekten av temperatur gjordes en regressionanalys. Det finns ett linjärt samband mellan temperatur och antal ägg, både för honorna i kairomonvatten och kontrollhonorna (Regression: Med kairomoner: $F=4,20$, $P=0,05$, $df=1, 22$, Utan kairomoner: $F=10,06$, $P=0,004$, $df=1, 22$). Den linjära trenden för både kairomonhonorna och kontrollhonorna visar att de bildade fler antal ägg vid lägre temperaturer (Fig. 5).

Äggens tillväxt

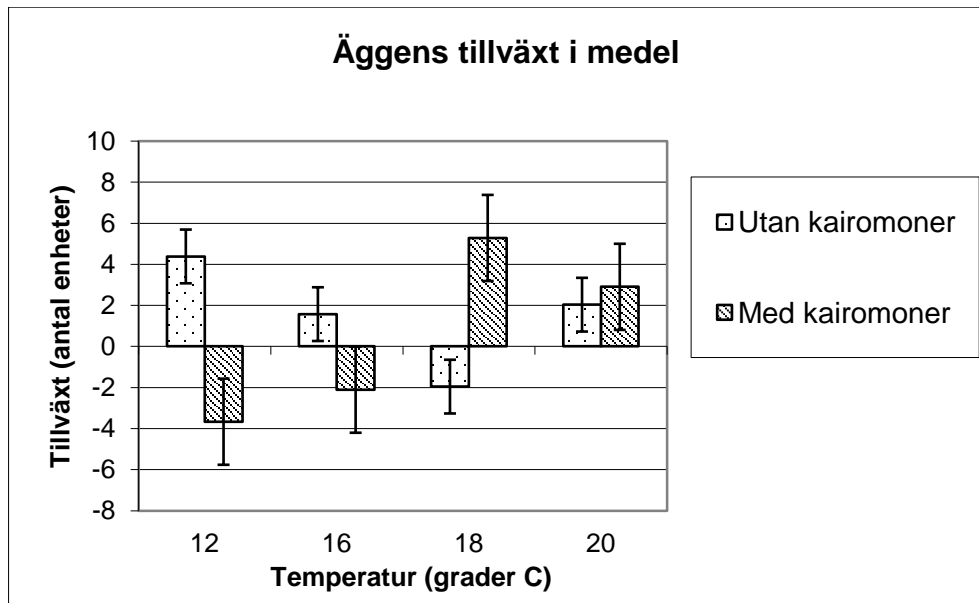


Fig. 6. Tillväxten i medeltal \pm 1 standard avvikelse för honornas ägg vid de fyra olika temperaturerna, med och utan kairomoner. Negativa tal betyder att honorna hade fler ägg vid start än vid slutet av försöken.

Äggen hos de honor som utsatts för kairomoner visar en större tillväxt ju högre temperaturen har varit. Omvänt gäller för kontrollhonorna (Fig. 6). Dock kunde ingen signifikant skillnad påvisas, varken på temperaturens inverkan eller på predatorbehandling (med respektive utan kairomoner) på äggens tillväxt (Tabell 2). Interaktionen mellan temperatur och behandling (med/utan kairomoner) påverkades inte heller signifikant.

Antal viloägg

Mot slutet av experimentet bildade honorna en hel del viloägg, ephippier. Detta kunde ses tydligast i den näst sista temperaturen i ordningen, 16 °C, och även i den sista, 18 °C (Tabell 3).

Tabell 3. Procent av det totala antalet ägg som var viloägg per temperatur. Temperaturen visas i testordning för att illustrera att fler viloägg bildades i slutet av experimentet.

Temperatur i testordning	20	16	12	18
Procent av äggen som var viloägg	1	47	5	21

Diskussion

En av hypoteserna var att honorna skulle tillväxa mindre vid närvaro av predator/kairomoner än vid frånvaron och att denna effekt skulle bli tydligare med lägre temperatur. Det fanns en svag tendens för en effekt av temperatur (som var långt ifrån att vara signifikant) men ingen signifikans av varken temperatur eller kairomonbehandling kunde påvisas. Variationen mellan replikat inom en behandling var hög och bidrar förmodligen till avsaknaden av en sådan effekt. Avsaknaden av en effekt stämmer inte med studien av Walls och Venteläs (1998), där exponeringen av *Chaoborus* visar på en lägre tillväxt hos *D. pulex* honorna oberoende av temperatur (16 °C jämfört med 20 °C).

Yampolsky och Scheiner (1996) visade i sin studie att honor släpper fler ägg vid högre temperaturer, så som jag hade förväntat mig enligt min hypotes, men så var inte resultatet av mitt experiment. Istället fann jag motsatsen, att det var en minskning i antal ägg vid högre temperaturer. Denna effekt är svår att förklara, men det kan hänga ihop med att försöken vid 12 och 18°C kördes i mörker. Enligt Lampert och Sommer (1997) påverkar årstiderna bildandet av viloägg. När viloägg bildas upphör parthogenesen. Enligt Larsson (1991) påverkar bland annat få ljjustimmar (L:D=8:16) bildandet av viloägg. Honorna som gått i mörker under mitt experiment kan alltså ha ändrat sin reproduktion, vilket kan ha påverkat den uteblivna effekten av kairomonbehandling.

Skillnaden i antalet ägg påverkades inte av kairomoner, även om det fanns en svag tendens för honor att producera flera ägg i frånvaron än i närvaron av predatorlukt ($P=0,10$). Walls och Ventelä (1998) visade en sådan effekt, att honorna som inte exponerades för *Chaoborus*-lukt bildade fler antal ägg än honor exponerade för *Chaoborus*-lukt. Dessutom fann de att effekten var större vid lägre temperatur. Mitt resultat liknar Walls och Venteläs (1998) resultat, där honor som gick i kairomonvatten bildade i medeltal ett större antal ägg jämfört med kontrollhonorna vid lägre temperatur. Men som sagt kunde jag inte påvisa en signifikant skillnad mellan kairomonutsatta honor och icke-kairomonutsatta honor.

Äggen hos kairomonhonorna visade en lägre tillväxt med lägre temperatur. Kontrollhonorna visade ett helt omvänt förhållande. I de två lägsta temperaturerna bildade kairomonhonorna ägg med mindre storlek jämfört med kontrollhonorna. Ingen signifikant skillnad kunde dock påvisas. Lüning (1995) visade att avkomman var större vid födseln när honorna varit exponerade för *Chaoborus*. Det stämmer inte med resultaten i min studie.

Äggens tillväxt var inte heller som förväntat enligt min hypotes, att de skulle öka mer i storlek vid lägre temperatur och med kairomoner i vattnet.

Honorna som inte var med i experimentet, utan hölls i kar i rumstemperatur och med naturliga ljus- och mörkreförhållanden bildade många viloägg vid denna tid (oktober-november). Detta är ett tecken på att förhållandena försämrades för populationen. Troligtvis reagerade de på den minskade dagslängden på hösten. Detta kan vara en förklaring till varför honorna i experimentet började bilda viloägg under experimentet. Enligt Larsson (1991) är de faktorer som främst styr bildandet av viloägg är närvaro av hanar, trängsel samt förhållandet mellan antal ljus- och mörkertimmar under dygnet. Antalet ljus och mörkertimmar har alltså en påverkan på bildandet av viloägg och då även på parthogesen.

Ordningsföljden på de olika temperaturerna kan ha påverkat mina resultat. Mer tillförlitliga resultat kanske kunde ha fått om experimentet körts vid samma tidsperiod. Det som begränsade att experimentet inte gjordes på detta sätt var att det endast fanns ett värmeskåp med kylande funktion att tillgå på institutionen. Dock slumpade jag ut ordningen för att reducera ifall det fanns en ordningseffekt.

Man kan sammanfatta resultatet i mitt experiment med att kairomoner inte hade någon effekt på honorna som utsattes för dem. Den enda signifikanta skillnaden som kunde påvisas var att temperaturen påverkade antal ägg där honorna oberoende av behandling (med respektive utan kairomoner) bildade fler antal ägg vid lägre temperatur. Avsaknaden av en sådan effekt kan hänga ihop med att försöket kördes i mörker vid de två sista temperaturerna (12 och 18°C) på grund av att värmeskåpets lampa gick sönder. Honorna acklimatiserades också till de två sista temperaturerna i mörker, vilket betyder att de gick i mörker flera dagar. Vid 16 och 18 °C, den andra och sista temperaturen som kördes i mitt experiment, bildades många viloägg vilket också kan ha påverkat den uteblivna effekten av predatorbehandling. Alltså ser jag två komplicerande faktorer till mitt experiment, dels att två temperaturer kördes i mörker och dels att honorna bildade många viloägg. Detta kan ha påverkat den uteblivna effekten av predatorbehandling.

Variationen av honornas längd oberoende av behandling (med/utan kairomoner) var stor i 18 °C. Även storleken på äggen varierade mycket i alla temperaturer oberoende av behandling. Om jag hade haft fler replikat borde variationen ha minskat och fler signifikanser kanske hade kunnat visas.

I andra experiment har honor odlats upp från en enda hona. Därmed har honor med samma genotyp använts i experiment (Walls och Ventelä, 1998). På grund av att mitt experiment var begränsat till en kort tid var inte detta möjligt. Det kan också vara en av förklaringarna till att resultatet inte riktigt blev det förväntade. För att få ungefär samma respons hos alla individer hade troligtvis en population med samma genotyp varit att föredra.

Syftet med denna studie var att studera hur temperatur påverkar olika mått på fekunditet i närvaron och frånvaron av en predator. Mina hypoteser stämde inte. Signifikans kunde dock bara visas på temperaturrens effekt på antal ägg, där honorna producerade fler antal ägg vid lägre temperatur. Jag har identifierat flera källor som kan ha påverkat resultatet men de mest komplicerande faktorerna är att två temperaturer kördes i mörker (12 och 18°C) och att honorna bildade många viloägg vid två av temperaturerna (16 och 18°C). Den uteblivna effekten av kairomonbehandlingen kan ha påverkats av dessa. Reproduktion hos *Daphnia* är en komplex process som påverkas av många faktorer. Ytterligare studier krävs för att kunna isolera effekterna av olika faktorer, såsom predation, temperatur och ljus på fekunditet hos *Daphnia*.

Litteratur

- Brönmark, Christer och Hansson, Lars-Anders (1998) *The Biology of Lakes and Ponds*: 89-90.
- Lawrence, Eleanor (1991) *Hendersons Dictionary of Biological Terms*, 11th edition: 299.
- Lampert och Sommer (1997) *Limnoecology-The Ecology of Lakes and Streams*: 242-246.
- Larsson, Petter (1991) Intraspecific variability in response to stimuli for male and ephippia formation in *Daphnia pulex*. *Hydrobiologia*, **225**: 281-290.
- Lüning, Julia (1995) Life-history responses to *Chaoborus* of spines and unspined *Daphnia pulex*, *Journal of Plankton Research*, vol **17 (1)**: 71-84.
- Spitze, Ken (1992) Predator-mediated plasticity of prey life history and morphology: *Chaoborus americanus* predation on *Daphnia pulex*, *The American Naturalist*, **139 (2)**: 229-247.
- Tollrian, Ralph (1995) *Chaoborus crystallinus* predation on *Daphnia pulex*: can induced morphological changes balance effects of body size on vulnerability? *Oecologia* **101**: 151-155.
- Walls, Mari and Ventelä, Anne-Mari (1998) Life history variability in response to temperature and *Chaoborus* exposure in three *Daphnia pulex* clones, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**: 1961-1970.
- Sandhall, Åke och Berggren, Hans (1981), *Mikrobilder liv i damm och sjö*: 85
- Black, A.R. (1993) Predator-induced phenotypic plasticity in *Daphnia pulex*: life history and morphological responses to *Notonecta* and *Chaoborus*. *Limnol. Oceanogr.* **38**: 986-996
- Havel, J.E. and Dodson, S.I. (1987) Reproductive costs of *Chaoborus*-induced polymorphism in *Daphnia pulex*. *Hydrobiologia*, **150**: 273-281.
- Yampolsky, L.Y. and Scheiner, S.M. (1996) Why larger offspring at lower temperatures? A demographic approach. *Am. Nat.* 147:86-100

Bilaga 1 Artificiellt hårt vatten

Nedan följer ett recept på artificiellt hårt vatten som användes under experimentet.

A. Bered följande lösningar

1. **Kalciumkloridlösning:** Lös 11,76 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ i vatten och späd till 1 liter med destillerat eller avjoniserat vatten

2. **Magnesiumsulfatlösning:** Lös 4,93 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ i vatten och späd till 1 liter med destillerat eller avjoniserat vatten

3. **Natriumhydrogenkarbonatlösning:** Lös 2,59 g NaHCO_3 i vatten och späd till 1 liter med destillerat eller avjoniserat vatten

4. **Kaliumkloridlösning:** Lös 0,23 g KCl i vatten och späd till 1 liter med destillerat eller avjoniserat vatten

B. Blanda 25 ml av var och en av lösningarna, 1 till 4, och späd till en total volym av 1 liter med destillerat eller avjoniserat vatten.

Justera pH till $7,8 \pm 0,2$ genom att tillsätta saltsyra eller natriumhydroxidlösning.