

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

EFFETS D'UN BRUNISSEMENT D'EAU DOUCE SUR DES POPULATIONS DE
ZOOPLANCTON ISSUES D'UN GRADIENT DE CARBONE ORGANIQUE
DISSOUS

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR
MARILYNE ROBIDOUX

SEPTEMBRE 2014

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

AVANT-PROPOS

Ce projet de maîtrise est l'un des premiers effectué dans le jeune laboratoire Derry centré sur l'écologie et l'évolution des écosystèmes aquatiques. Ce mémoire a pour objectif de vérifier s'il y a des différences entre les sources des communautés et des populations d'une métacommunauté de zooplancton crustacés le long d'un gradient de carbone organique dissous trouvé naturellement dans les paysages tempérés nordiques.

En tout premier lieu, je tiens à débiter le présent mémoire en remerciant Alison Derry, une directrice de recherche hors du commun, pour son énergie, sa spontanéité et sa force de caractère qui m'ont guidée vers l'accomplissement de cette maîtrise. Elle a su m'aider à me dépasser tout en m'épaulant, même dans les moments les plus périlleux. Merci à Paul del Giorgio, un co-directeur solide qui a toujours su me référer lors de doutes et problèmes. Il m'a aussi permis de faire partie de la chaire de recherche Biogéochimie du carbone des écosystèmes aquatiques (BiCÉAB/CarBBAS) qui rassemble un excellent groupe d'étudiants qui m'ont grandement aidé dans le développement de mon projet ainsi que dans sa réalisation. Je tiens à remercier plus spécialement deux membres de ce groupe : Nicolas Fortin Saint-Gelais, mon allié dans le domaine du zooplancton d'eau douce et Jean-François Lapierre, pour son aide conceptuelle constante.

Aussi, vu le jeune âge du laboratoire Derry, l'un des plus grands défis de ce projet fut d'emprunter et/ou d'obtenir tout le matériel nécessaire à sa réalisation. C'est pourquoi je tiens à remercier les chercheurs du Groupe de recherche interuniversitaire en limnologie et en environnement aquatique (GRIL) ayant participé à la réalisation de ce projet, entre autres, par leur grande générosité matérielle: Beatrix Beisner, Paul del Giorgio et David Bird. Le GRIL m'a également beaucoup aidée en me permettant de me réaliser au sein de son regroupement en tant que représentante étudiante de l'UQAM.

Il m'est aussi de grande importance de remercier particulièrement Anthony Merante, Cristina Charette et Jorge Negrin Dastis pour leur aide plus que précieuse sur le terrain, les nombreux cafés et soirées partagés ainsi que leur simple présence dans le laboratoire (ou plutôt la

famille!) Derry. Merci également à mes collègues du deuxième étage; Juan Pablo Niño Gargia, Geneviève Thibodeau, Sara Mercier-Blais, Vincent Jobin-Ouellet, Matthew Bogard, Cynthia Soued, Carolina Garcia Chavez, Lennie Boutet et autres membres du CarBBAS avec qui j'ai eu la chance de partager de nombreuses discussions enrichissantes, de longues journées sur le terrain et/ou en laboratoire et des dîners et cafés qui ont embelli mes journées.

J'aimerais aussi remercier spécialement Annick Saint-Pierre, Alice Parkes, Katherine Velghe, Julien Arsenault et Akash Sastri pour leur aide professionnelle tant appréciée. Merci aussi à Yves Prairie pour ses précieux conseils en statistiques. Je suis également reconnaissante envers le personnel de la Station de Biologie des Laurentides pour leur soutien au cours de mon été de terrain. Ce dernier aurait été bien plus compliqué sans John C. Odelle qui nous a gentiment laissé accéder facilement et qui a veillé sur le magnifique lac Violon où était installée ma plateforme expérimentale. Merci aussi à Monique Arianne Rezende, Ola Khawasek, Catherine Lévesque et Kamille Bareille-Parenteau pour leur aide autant sur le terrain qu'en laboratoire.

Finalement, merci à mes amis, spécialement Annie-Pier Besner, Sandrine Caron et Katrine Chalut, qui ont toujours été présents pour moi, autant pour une petite soirée qu'un peu d'aide en laboratoire ou un coup de main en grammaire. Je tiens finalement à dire un gros merci à ma famille Robidoux ainsi qu'à Mathieu D'Amours, car sans vous, il m'aurait été difficile de franchir les épreuves rencontrées au cours de cette maîtrise. Merci de votre soutien inconditionnel et d'avoir égayé mon parcours; une grande partie de ma réussite vous revient.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	I
LISTE DES FIGURES	V
LISTE DES TABLEAUX.....	VII
LISTE DE SYMBOLES ET DES UNITÉS	VIII
RÉSUMÉ	IX
 INTRODUCTION	 1
0.1 L'écologie des métacommunautés.....	1
0.2 Études sur les métacommunauté.....	3
0.3 Changements climatiques et brunification des lacs nordiques	5
0.4 Zooplancton crustacés et carbone organique dissous	7
0.5 Étudier expérimentalement un changement de COD sur une métacommunauté de zooplancton.....	9
 CHAPITRE I	
LANDSCAPE-LEVEL VARIATION IN A CRUSTACEAN ZOOPLANKTON METACOMMUNITY IN FACE OF HUMIC STRESS	14
1.1 ABSTRACT	15
1.2 INTRODUCTION	16
1.3 METHODS.....	18
1.3.1 Study site and experimental design	18
1.3.2 Physico-chemical conditions	22
1.3.3 Basal resources	22
1.3.4 Crustacean zooplankton.....	23
1.3.5 Statistical analyses	25
1.4 RESULTS	27
1.4.1 Physico-chemical conditions	27
1.4.2 Basal resources	30
1.4.3 Zooplankton results	31

1.5	DISCUSSION.....	38
1.5.1	Population-level differences in body size.....	38
1.5.2	Zooplankton source effects in population abundance.....	39
1.5.3	Water treatment effects.....	40
1.5.4	Conclusion	42
1.6	ACKNOWLEDGMENTS	43
	CONCLUSION.....	45
	APPENDICE A	
	SCHÉMA DU MODÈLE FACTORIEL DE L'EXPÉRIENCE.....	51
	APPENDICE B	
	RÉSULTATS DES ANALYSES DE VARIANCE À MESURES RÉPÉTÉES (RM-ANOVA) SUR LES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES ET LES RESSOURCES DE BASE DE L'EXPÉRIENCE	52
	APPENDICE C	
	RÉSULTATS DE L'ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES (PCA) DE LA COMPOSITION EN BIOVOLUME DU PHYTOPLANCTON ISSU DE L'EXPÉRIENCE.....	53
	BILIOGRAPHIE.....	55

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 Photograph of a measured <i>Leptodiaptomus minutus</i> (GR = 45X).....	25
1.2 Physico-chemical water conditions in enclosures over the 8 week duration of the experiment (mean $\pm$ standard error (SE)) of (a) dissolved organic carbon (DOC, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), (b) colored dissolved organic matter (CDOM, absorption at 440 nm), (c) total phosphorus concentration (TP, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), (d) dissolved oxygen concentration (DO, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), (e) pH and (f) conductivity ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$).....	29
1.3 Basal resources in enclosures over the 8 week duration of the experiment (mean $\pm$ SE) of (a) total chlorophyll <i>a</i> concentration (Chl <i>a</i> , $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and (b) bacterial production ($\mu\text{g C}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{day}$)	31
1.4 Initial (week 0) results for zooplankton community metrics (Shannon-Wiener (S-W) diversity, species richness and total biomass) and population responses (abundance of the focal species: $\ln(\text{Ni}+1)-\ln(\text{Ns}+1)$). The 5 focal species were <i>Tropocyclops prasinus mexicanus</i> , <i>Cyclops scutifer</i> , <i>Acanthocyclops robustus</i> , <i>Leptodiaptomus minutus</i> and <i>Bosmina longirostris</i> . Scales are different from one figure to another.....	34
1.5 Final (week 8) results for zooplankton community metrics (Shannon-Wiener (S-W) diversity, species richness and total biomass) and population responses (abundance of the focal species: $\ln(\text{Nf}+1)-\ln(\text{Ni}+1)$). The 5 focal species were <i>Tropocyclops prasinus mexicanus</i> , <i>Cyclops scutifer</i> , <i>Acanthocyclops robustus</i> , <i>Leptodiaptomus minutus</i> and <i>Bosmina longirostris</i> . Scales are different from one figure to another.....	35
1.6 Body size of <i>Leptodiaptomus minutus</i> (μm) among DOC-rich and DOC-poor zooplankton source categories in source lakes in week 0, and b) among experimental treatments in mesocosms at week 8 of the experiment: water treatment (WT: brown vs. clear) and zooplankton source (DOC-rich versus DOC-poor).....	36
1.7 Factorial design of the 2 x 2 x 3 common garden field transplant experiment (36 enclosures in total; n=3) with two main effects: 1) WT = water treatment (DOC decrease (clear water treatment) or increase (brown water treatment) relative to zooplankton source conditions; 2) ZS = zooplankton source (three DOC-poor lakes ($< 3.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) versus three DOC-rich lakes (> 8.5	

mg·L⁻¹)). The model has one random effect: LS = lake source, which is represented by the circles that indicate lake 1, lake 2 etc: L1, L2, L3, L4, L5 and L6 for which there are 3 replicates each. APENDICE A 51

- 1.8 PCA of phytoplankton genus biovolume composition in experimental enclosures at the week four of the experiment. Open symbols represent clear water treatment and solid symbols represent the brown water treatments. Triangles represent the treatment with DOC-rich lake zooplankton source and circles represent the treatment with DOC-poor lake zooplankton source. APPENDICE C.....53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1 Physical, chemical and biological characteristics of source lakes and incubation lake (CDOM: colored dissolved organic carbon, TP: total phosphorus, Chl α : chlorophyll α concentration, BP: bacterial production). Trophic classification is from (Wetzel, 2001).	21
1.2 Initial (week 0) results for zooplankton community metrics (Shannon-Wiener (S-W) diversity, species richness and total biomass) and population responses (abundance of the focal species: $\ln(N_i+1)-\ln(N_s+1)$). The 5 focal species were <i>Tropocyclops prasinus mexicanus</i> , <i>Cyclops scutifer</i> , <i>Acanthocyclops robustus</i> , <i>Leptodiaptomus minutus</i> and <i>Bosmina longirostris</i> . Results are from a 2 x 2 x 3 factorial ANOVA with WT (water treatment) and ZS (zooplankton source) as fixed effects, and lake source as a random effect (lake-specific P-values not shown here).....	33
1.3 Final (week 8) results for zooplankton community metrics (Shannon-Wiener (S-W) diversity, species richness and total biomass) and population responses (abundance of the focal species: $\ln(N_f+1)-\ln(N_i+1)$). The 5 focal species were <i>Tropocyclops prasinus mexicanus</i> , <i>Cyclops scutifer</i> , <i>Acanthocyclops robustus</i> , <i>Leptodiaptomus minutus</i> and <i>Bosmina longirostris</i> . Results are from a 2 x 2 x 3 factorial ANOVA with WT (water treatment) and ZS (zooplankton source) as fixed effects, and lake source as a random effect (lake-specific P-values not shown here).....	33
1.4 Comparison of <i>Leptodiaptomus minutus</i> body size (μm) among experimental treatments and between initial week 0 and final week 8 of the mesocosm experiment. Results are from a 2 x 2 x 2 factorial ANOVA with water treatment (WT), zooplankton source (ZS) and week as main effects. Measurement of <i>L. minutus</i> body size were pooled among lake source replicates for each given zooplankton source replicate	37
1.5 Repeated-measures analysis of variance (RM-ANOVA) by simple and interaction effects of time interactions for physico-chemical (dissolved organic carbon (DOC), colored dissolved organic matter (CDOM), total phosphorus (TP), dissolved oxygen (DO), pH, conductivity), and basal resources (total chlorophyll a (Chl a) and bacterial production (BP)). APPENDICE B.....	52

LISTE DE SYMBOLES ET DES UNITÉS

BP	Production bactérienne (en $\mu\text{g C}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{jour}^{-1}$)
CDOM	Matière organique dissoute colorée (Absorption à 440 nm)
Chl a	Chlorophylle a (en $\mu\text{g L}^{-1}$)
DO	Oxygène dissous (en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
DOC/COD	Carbone organique dissous (en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
T	Température (en $^{\circ}\text{C}$)
TA	Total abundance (en nombre d'individus $\cdot\text{m}^{-3}$)
TCA	Acide trichloriacétique
TP	Phosphore total (en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
UV	Ultraviolet
VIT	Variation de traits intra-spécifique
WT	Traitement de brunification de l'eau
ZS	Source du zooplancton
N $_s$	Abondance du zooplancton dans le lac d'origine
N $_i$	Abondance initiale du zooplancton dans les mésocosmes
N $_f$	Abondance finale du zooplancton dans les mésocosmes

RÉSUMÉ

La sélection environnementale d'espèces et de phénotypes le long d'un gradient du paysage peut prédisposer ou désavantager adaptivement les communautés et populations face à un agent de stress local. Cette étude unique considère les différences au niveau des populations parmi des communautés de zooplancton régionales vivant dans un paysage tempéré-nordique d'eau douce. Ce paysage possède un gradient en carbone organique dissous (COD) et les réponses de différentes populations de zooplancton issues de ce paysage ont été étudiées face à un agent de stress local humique, c'est-à-dire un brunissement de l'eau (augmentation de COD). Si le zooplancton est préadapté à différents niveaux ambiants de COD au sein du paysage, il est anticipé que les populations issues de lacs riches en COD devraient maintenir de plus grandes abondances et les individus devraient posséder de plus grandes tailles corporelles face à un brunissement expérimental en comparaison à des populations issues de lacs pauvres en COD. Ces hypothèses ont été vérifiées par la réalisation d'une expérience en mésocosmes utilisant des communautés de zooplancton issues de six lacs des Laurentides (Québec, Canada). Ces lacs ont été catégorisés selon leur concentration en COD, soit les lacs clairs ($< 3,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) et les lacs foncés ($\geq 8,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Ainsi, une expérience factorielle $2 \times 2 \times 3$ a été conduite sur 8 semaines et les différentes communautés de zooplancton ont été soumises à un traitement d'augmentation de COD dans les mésocosmes construits. Une différence phénotypique a été observée entre les populations issues des deux types de lacs. En effet, la taille corporelle d'une espèce de calanoïde copépode largement distribuée en Amérique du Nord, *Leptodiaptomus minutus*, était plus grande pour les individus issus de lacs riches en COD en comparaison aux individus issus de lacs pauvres en COD. Autant les mécanismes physiologiques que les effets du réseau trophique semblent avoir eu un impact sur ce zooplancton issu de lacs riches en COD favorisant des tailles corporelles plus grandes en comparaison aux populations issues de lacs pauvres en COD. Une plus grande taille corporelle d'un individu peut être liée à d'autres traits, tels la fécondité et le temps de reproduction, qui ont le potentiel d'affecter la démographie et les interactions au sein de la communauté. Par ailleurs, les données analysées n'ont pu supporter l'hypothèse que les populations de zooplancton issues de communautés de lacs riches en COD peuvent maintenir une plus grande abondance face à un brunissement de l'eau en comparaison aux populations issues de lacs pauvres en COD. Le facteur de stress humique a négativement influencé l'abondance totale de toutes les espèces de zooplancton crustacés pélagiques examinées et a favorisé de plus grands individus autant pour les populations de *L. minutus* issues de lacs riches et pauvres en COD. De futurs travaux pourraient être effectués afin de comprendre les variations de taille corporelle au niveau intra-spécifique des populations zooplanctoniques le long d'un gradient d'eau douce du paysage en COD et pourraient révéler des informations essentielles sur les réponses évolutives et écologiques face au brunissement des lacs.

Mots clés : taille corporelle, zooplancton crustacés, carbone organique dissous (COD), eau douce, agent de stress humique, gradient du paysage

INTRODUCTION

Les écosystèmes aquatiques semblent être, pour plusieurs, des habitats élémentaires et statiques. En fait, ces écosystèmes sont en dynamisme constant et abritent une faune et une flore très diversifiée et interactive. Les conditions climatiques changeantes actuelles viennent toutefois perturber ces habitats aquatiques, en modulant notamment les interactions inter-spécifiques des communautés et intra-spécifiques des populations. Subséquemment, la compréhension des mécanismes modulant une métacommunauté suite à un stress environnemental est très importante puisqu'elle permettra de mieux comprendre l'effet de ces changements sur différentes communautés et populations du paysage.

0.1 L'écologie des métacommunautés

L'écologie des communautés en tant que domaine d'étude se veut d'expliquer les tendances de distribution, d'abondance et d'interaction d'espèces (Leibold *et al.*, 2004). Ces tendances se produisent à différentes échelles spatiales et peuvent varier en fonction de l'échelle d'observation, ce qui suggère que différents principes peuvent s'appliquer à différentes échelles spatiales. C'est pourquoi l'un des cadres théoriques les plus prometteurs pour étudier les réponses à des changements écologiques est le concept des métacommunautés (Winegardner *et al.*, 2012). Une métacommunauté est un ensemble de communautés locales (c'est-à-dire l'ensemble des individus de toutes les espèces qui interagissent potentiellement à l'intérieur d'un agrégat ou de la surface locale d'un habitat) qui sont liées par la dispersion de plusieurs espèces en interaction (Wilson, 1992). Autrement dit, il s'agit d'un ensemble de communautés locales connectées par la dispersion d'espèces. L'étude des métacommunautés tient

donc compte d'une large échelle spatiale et ainsi tente d'expliquer les tendances de distribution, d'abondance et d'interaction d'espèces à plusieurs niveaux.

De ce fait, la théorie des métacommunautés est une approche mécanistique qui peut être utilisée afin de comprendre la dynamique de communautés locales (Logue *et al.*, 2011). En effet, comprendre les mécanismes en lien avec la distribution d'espèces, leur abondance et leurs interactions est central pour l'écologie des communautés, laquelle se concentrait traditionnellement soit sur les processus locaux (Clements, 1936), soit sur les dynamiques à échelle régionale (Gleason, 1926 ; MacArthur and Wilson, 1967). Dernièrement, ce domaine d'étude a reconnu que la composition des communautés à l'intérieur d'un habitat local est affecté autant par les interactions locales que les interactions régionales (Logue *et al.*, 2011). C'est cette idée de l'importance et de l'interaction des processus se produisant à différentes échelles affectant la composition et la diversité des communautés locales qui incarne la base de la théorie des métacommunautés. Celle-ci a pour but d'expliquer l'interdépendance entre interactions locales (au sein d'espèces et entre espèces et/ou entre espèces et environnement) et processus régionaux (dispersion) (Holyoak *et al.*, 2005 ; Logue *et al.*, 2011). Leibold *et al.* (2004) et Holyoak *et al.* (2005) ont proposé quatre paradigmes de la théorie des métacommunautés: (i) modèle neutre, (ii) dynamique d'aggrégats, (iii) effets de masse et (iv) triage d'espèces. À l'heure actuelle, la compréhension de la dynamique de métacommunautés est principalement de nature théorique, favorisée par des paradigmes conceptuels qui se sont développés plus rapidement et rigoureusement en comparaison aux approches empiriques correspondantes (Leibold *et al.*, 2004). Les quelques approches empiriques réalisées consistent en des études adressant différents aspects de la théorie des métacommunautés qui testent les quatre paradigmes de la théorie des métacommunautés par des expériences et qui évaluent et interprètent l'assemblage des communautés par des observations dans son cadre théorique (Logue *et al.*, 2011).

0.2 Études sur les métacommunautés

Logue *et al.* (2011) a identifié que les études expérimentales présentaient des approches très diversifiées pour analyser les métacommunautés et que la plupart de ces études, focalisant sur des invertébrés, étaient en lien avec les environnements aquatiques. La majorité des expériences identifiées ont fait le suivi de variables réponses multiples, telles l'abondance et/ou la biomasse et la diversité et/ou l'équitabilité (*evenness*) et la moitié étaient réalisées afin de tester un paradigme spécifique de la théorie des métacommunautés. Pour les études ayant utilisé une approche observationnelle, une fois de plus, la majorité des observations ont été réalisées dans des milieux pélagiques lenticques aquatiques afin de vérifier un paradigme spécifique (Logue *et al.*, 2011).

Aussi, Logue *et al.* (2011) a fait l'évaluation des approches empiriques, tant expérimentales qu'observationnelles, étudiant les métacommunautés et a suggéré quelques façons pour améliorer leur utilisation. Il a d'abord suggéré l'extension d'approches empiriques à différents types d'organismes et d'habitats (tel que mentionné ci-haut, les études actuelles étant majoritairement effectuées sur des invertébrés aquatiques), non seulement pour élargir l'étendue des conclusions à tirer, mais aussi pour incorporer d'autres types de dynamiques spatiales qui s'étendent au-delà de la compétition. En fait, les interactions spatiales et locales ont besoin d'être liées selon les mesures actuelles de taux de dispersion et de mobilité. Aussi, il a proposé de faire l'intégration de l'ensemble des paradigmes sur les métacommunautés (Leibold *et al.*, 2004), ce qui requerra le co-développement de nouvelles approches théoriques et des manières plus sophistiquées pour tester les prédictions faites par les théories. Également, il a été recommandé d'incorporer des contraintes additionnelles de dynamique spatiale telles les dynamiques évolutionnaire et méta-écosystémique (Logue *et al.*, 2011). Par ailleurs, Winegardner *et al.* (2012) a récemment suggéré que les écologistes cessent de caractériser les métacommunautés

par leurs quatre paradigmes. Au lieu de cela, ils devraient démanteler ces paradigmes et retourner à la réflexion de base de ce que ceux-ci signifient vraiment pour la dispersion et les signaux environnementaux des métacommunautés (Winegardner *et al.*, 2012). De plus, les événements stochastiques (changements environnementaux) qui sont très certainement pertinents dans la nature, mais trop peu étudiés à l'intérieur de l'écologie des métacommunautés, sont prédits d'augmenter dans notre monde en changement (Logue *et al.*, 2011); étudier expérimentalement l'effet de variables changeantes sur une métacommunauté pourrait ainsi être très approprié.

La présente étude étant centrée sur les organismes (invertébrés aquatiques) les plus fréquemment utilisés dans les études à approches empiriques et observationnelles des métacommunautés, elle offre une contribution unique à la compréhension des métacommunautés en considérant comment la variation de trait intra-spécifique (VIT) diffère entre différentes sources d'habitats le long d'un gradient du paysage en carbone organique dissous (COD). Cette variation de traits intraspécifiques peut être importante pour les réponses écologiques et évolutionnaires locales face à une brunification des lacs associée aux changements climatiques. De plus, ce projet n'évalue pas les réponses selon un paradigme de base spécifique, mais tente plutôt d'élucider l'effet de signaux environnementaux sur une métacommunauté. De par l'étude des changements de COD reliés aux changements climatiques, ce projet fait aussi l'observation d'effets d'évènement stochastique sur une métacommunauté.

Alors que les communautés non-perturbées résistent souvent à l'établissement de nouvelles espèces (Shurin *et al.*, 2000 ; Strecker and Arnott, 2010), les changements environnementaux peuvent induire une altération des conditions abiotiques et de la disponibilité des ressources qui augmentent le succès d'établissement d'espèces en dispersion (Chesson and Huntly, 1997 ; Davis *et al.*, 2000 ; Duffy *et al.*, 2000). La théorie suggère que la dispersion d'espèces issues d'un bassin régional peut aider à contrer les changements en diversité des communautés locales, suite à une

perturbation environnementale, via l'établissement d'espèces fonctionnellement tolérantes (hypothèse d'assurance spatiale: (Folke *et al.*, 1996 ; Yachi and Loreau, 1999 ; Gonzalez and Loreau, 2009)). L'hypothèse d'assurance spatiale ainsi que l'importance de la dispersion de diversité interspécifique régionale dans la résilience écologique des communautés face à une perturbation environnementale ont été supportées empiriquement (Staddon *et al.*, 2010 ; Thompson and Shurin, 2012 ; Symons and Arnott, 2013). Cependant, le rôle de la VIT est souvent négligé malgré son importance reconnue pour la compréhension des réponses écologiques des métacommunautés face aux changements environnementaux (Urban *et al.*, 2008; Urban, 2011). En réponse au stress, les communautés et les populations pourraient réagir de façon à maintenir leurs structures et leurs fonctions (Loreau *et al.*, 2003) ou subir des pertes de biodiversité et des déclin de leurs performances en tant qu'écosystème (Chapin *et al.*, 1997). La VIT peut potentiellement fournir une solution pour maintenir la structure et les fonctions au niveau des communautés face à une perturbation ou même potentiellement modifier les propriétés écologiques globales des communautés sans nécessairement impliquer des changements de composition d'espèces.

0.3 Changements climatiques et brunification des lacs nordiques

Les habitats aquatiques sont les écosystèmes idéals pour étudier les réponses d'une métacommunauté à un changement local de conditions environnementales à cause de leur structure spatiale intrinsèque au paysage (Leibold and Norberg, 2004). Une des variables environnementales appelée à être modifiée en association avec les changements climatiques est l'apport de carbone organique dissous (COD) terrestre vers les lacs. La majorité des études sur les lacs tempérés nordiques supporte une tendance générale de brunification des lacs (Monteith *et al.*, 2007 ; Zhang *et al.*, 2010 ; Larsen *et al.*, 2011), bien que les lacs puissent devenir plus clairs (moins d'apport de

COD) dans certaines régions (Fee *et al.*, 1996 ; Schindler *et al.*, 1996). Un autre perturbation environnementale influençant à la hausse la concentration en COD des lacs et par le fait même leur brunification est les coupes forestières (Pinel-Alloul *et al.*, 2002).

Le COD peut modifier directement les écosystèmes lacustres en brunissant l'eau, donc en diminuant la quantité de lumière disponible pour la production primaire phytoplanctonique (Ask *et al.*, 2012). Le COD peut aussi augmenter la production bactérienne et indirectement modifier les ressources de base du réseau trophique aquatique en diminuant la biomasse des ressources algales de grande qualité nutritive (Brett and Muller-Navarra, 1997) et en augmentant les ressources bactériennes moins nutritives (Brett and Muller-Navarra, 1997) qui consomment le carbone du COD comme ressource de base (Hobbie *et al.*, 1999 ; Bergstrom and Jansson, 2000 ; Jansson *et al.*, 2000 ; Lennon and Pfaff, 2005 ; Rautio and Vincent, 2006 ; Karlsson *et al.*, 2007 ; Lennon and Cottingham, 2008 ; Kankaala *et al.*, 2010 ; Faithfull *et al.*, 2012). En effet, un changement de COD de ces écosystèmes aquatiques affecte la pénétration de la lumière, via la matière organique dissoute colorée (MODC), ce qui modifie l'exposition du zooplancton aux effets délétères des ultra-violets (UV) (Hansson and Hylander, 2009) ainsi que la lumière disponible pour la croissance phytoplanctonique (Wissel and Boeing, 2003 ; Porcal *et al.*, 2009). Un changement au niveau de la lumière affecte l'équilibre compétitif (Wetzel, 2001) des bactéries et du phytoplancton pour les nutriments, ce qui modifie les ressources alimentaires de base (effet *bottom-up*) des réseaux trophiques (Jansson *et al.*, 2007). Aussi, les communautés zooplanctoniques sont directement affectées par cet effet *bottom-up*. Il faut savoir que les bactéries s'alimentant de COD allochtone peuvent être directement ingérées par les organismes mixotrophes (protistes ou métazoaires) (Berggren *et al.*, 2010b) et le zooplancton s'alimente directement sur les bactéries et les organismes mixotrophes. Une alimentation sur la voie bactérienne n'offre pas tous les éléments essentiels à la croissance du zooplancton (Fuschino *et al.*, 2011). Ainsi, ces effets

bottom-up auraient des impacts potentiels sur sa taille, sa fécondité et la composition en espèces des communautés. Pinel-Alloul *et al.* (2002) a montré une moins grande biomasse de calanoïdes en lien avec une forte concentration en COD de lacs de la région boréale. Par ailleurs, les lacs tempérés nordiques sont caractérisés par un large gradient naturel de COD (Ask *et al.*, 2012 ; Lapierre *et al.*, 2013) qui peut agir en tant qu'environnement sélectif pour les communautés et les populations aquatiques (Steinberg *et al.*, 2006). Ainsi, la source de l'habitat d'une communauté pourrait être importante pour les réponses spécifiques à certains taxons, notamment à cause du filtre environnemental initial des espèces pouvant y vivre et de leurs traits phénotypiques.

0.4 Zooplancton crustacés et carbone organique dissous

Le zooplancton crustacé est un organisme clé dans les écosystèmes aquatiques puisqu'il transfère l'énergie produite par les producteurs primaires vers les niveaux trophiques supérieurs (Thorp and Covich, 2010). Il a été démontré que le COD peut structurer les communautés de zooplancton dans le gradient du paysage existant (Shurin *et al.*, 2000 ; Strecker *et al.*, 2008 ; Korosi and Smol, 2011) et son importance relative dépend potentiellement de l'échelle géographique utilisée (Pinel-Alloul *et al.*, 2013). L'effet du COD sur différentes espèces de zooplancton est dépendant de leur taxon et de leur mode d'alimentation (Karlsson *et al.*, 2007), puisque certains groupes s'alimentent passivement, tels les cladocères qui se nourrissent directement sur les bactéries (Riemann, 1985), alors que d'autres groupes s'alimentent en sélectionnant activement les proies algales de haute qualité, comme le font les calanoïdes copépodes (Pace *et al.*, 1990 ; Zollner *et al.*, 2009).

Ainsi, l'effet du COD pourrait être taxon dépendant et la meilleure manière d'étudier son effet sur ces taxons serait d'étudier différentes populations de zooplancton. Or,

pour analyser les variations entre populations, la sélection d'un trait fonctionnel à mesurer sur les individus de chacune de ces populations est essentielle. La taille corporelle du zooplancton est un trait fortement lié aux changements environnementaux (Jansson *et al.*, 2007). La taille corporelle a le fort potentiel de déterminer les impacts relatifs de facteurs spatiaux et environnementaux sur la composition des communautés locales (Masson, 2004 ; Shurin *et al.*, 2009). Les variations de taille du corps du zooplancton, en lien avec les réserves d'énergie et la fécondité (Roff, 2002), qui pourraient être le résultat des altérations de ressources de base en carbone pourrait affecter le transfert d'énergie du réseau trophique aquatique (Jansson *et al.*, 2007). Une modification de la taille du corps et de la fécondité du zooplancton aurait une cascade de conséquences pour les fonctions des écosystèmes, comme la production primaire, la production bactérienne et les cycles nutritifs (Jansson *et al.*, 2007). Selon Jansson *et al.* (2007), un changement de la taille du zooplancton modifierait le transfert d'énergie d'un niveau trophique à l'autre. Comprendre les mécanismes sélectifs qui soulignent les variations de distribution de taille du corps et de la fécondité du zooplancton résultant de pressions ascendantes (*bottom-up*) est important parce que : (i) les perturbations faites par les changements climatiques vont modifier ces agents sélectifs dans les lacs et (ii) une modification de ces traits pourrait avoir des conséquences potentielles sur le fonctionnement des écosystèmes des lacs (Jansson *et al.*, 2007).

Par ailleurs, la distribution des espèces peut avoir des déterminants spatiaux et environnementaux évoquant les procédés des métacommunautés (Beisner *et al.*, 2006), c'est pourquoi l'étude des communautés est aussi très importante. Plusieurs approches ont été adoptées par les chercheurs pour étudier les effets du COD sur les communautés aquatiques, celui-ci étant un paramètre difficile à manipuler à grande échelle. Des échantillonnages spatiaux de patrons de communautés le long de gradients de COD sont influencés par plusieurs variables environnementales qui sont souvent très fortement corrélées les unes aux autres, tel le pH, les nutriments, la

lumière, la prédation par les poissons et les invertébrés et la connectivité des habitats (DeSellas *et al.*, 2008 ; Karatayev *et al.*, 2008 ; Strecker *et al.*, 2008 ; Derry *et al.*, 2009 ; Korosi and Smol, 2011). L'analyse d'un changement de COD uniquement sur le patron de distribution d'espèces de différentes communautés étant impossible avec des échantillonnages spatiaux, une approche expérimentale est nécessaire pour répondre à ce type de question.

0.5 Étudier expérimentalement un changement de COD sur une métacommunauté de zooplancton

Les expériences qui ont réussi à distinguer les effets du COD des autres variables environnementales ont majoritairement mis l'emphasis sur ses conséquences écologiques pour les communautés de phytoplancton et de bactéries (Bergstrom and Jansson, 2000 ; Jansson *et al.*, 2000 ; Lennon and Cottingham, 2008 ; Andersson *et al.*, 2013). Parmi les quelques travaux expérimentaux ayant voulu vérifier l'effet du COD et de la brunification sur le zooplancton, le COD et la couleur de l'eau y ont été manipulés de manière différente et ont donné des résultats à tendances contradictoires. En effet, le COD a été manipulé expérimentalement dans très peu d'études pour comprendre ses effets sur une communauté de zooplancton (Hessen *et al.*, 2004 ; Brett *et al.*, 2009 ; Nicolle *et al.*, 2012 ; Lefébure *et al.*, 2013). Ces études ont utilisé différentes méthodes afin de modifier la concentration de COD dans l'eau (ajout d'eau à très forte concentration de COD à de l'eau à faible concentration de COD (Hessen *et al.*, 2004 ; Nicolle *et al.*, 2012), utilisation d'extraits de feuilles et de sol (Brett *et al.*, 2009 ; Lefébure *et al.*, 2013)) et ont toutes obtenu des résultats très variables les unes par rapport aux autres. Ces études ont démontré qu'une augmentation de COD (ressource allochtone) diminue significativement l'abondance de calanoïdes copépodes (Nicolle *et al.*, 2012), diminue la contribution relative de la production zooplanctonique comparativement à lorsqu'en présence de ressources

alimentaires autochtones (Brett *et al.*, 2009), n'inflige pas de modification de biomasse totale (Lefébure *et al.*, 2013), et contrairement, augmente la biomasse totale du zooplancton (Hessen *et al.*, 2004). Les expériences impliquant des additions de glucose sans brunification de l'eau (c'est-à-dire pas d'altération de lumière) est une autre technique utilisée pour vérifier l'impact d'un changement d'apport de carbone au réseau trophique. Ce genre d'étude a résulté en une augmentation de la productivité bactérienne, de la biomasse des calanoïdes copépodes et des rotifères, alors qu'aucune différence n'a été détectée au niveau de la biomasse des cladocères (Faithfull *et al.*, 2011 ; Faithfull *et al.*, 2012).

Les expériences impliquant un changement de concentration de COD faite via une solution composée d'extraits de sols et de feuilles ou via un transplant d'eau à forte teneur en COD semblent être des indicateurs plus représentatifs et réalistes de changements de COD dérivé des apports terrestres aux milieux aquatiques. Cependant, il est très difficile logistiquement d'appliquer cette technique de brunification de l'eau à grande échelle, c'est pourquoi toutes les études ainsi réalisées ont été faites à petite échelle et avec petites colonnes d'eau. Des manipulations de COD sur des lacs entiers peuvent procurer des résultats réalistes quant à la réponse du réseau trophique soumis à de telles conditions (Solomon *et al.*, en préparation), mais cette approche manque de réplication. Patoine *et al.* (2002) a étudié des lacs sur des territoires à différentes perturbations forestières (forêt coupée, brûlée ou non-perturbée) où le COD variait en concentration et a démontré une diminution de biomasse de calanoïdes en présence de grande concentration de COD. Une autre façon de manipuler le COD a été faite sur plusieurs réplicats dans une étude effectuée sur des étangs entiers (Lennon *et al.*, 2013). Cette méthode utilise une substance issue de matières humiques naturelles provenant de tourbières appelée SuperHume. Le SuperHume est normalement utilisé à des fins de fertilisations agricoles. Lennon *et al.* (2013) a démontré que le SuperHume n'est pas toxique pour les *Daphnia* et qu'il n'y avait pas d'effet sur le taux de reproduction net et la survie du zooplancton. Dû à

la diversité d'approches pour étudier les effets du COD sur le zooplancton, il est difficile de comparer les résultats très variables obtenus entre les études au niveau des communautés de zooplancton.

L'objectif de ce projet était de vérifier si la source des populations et des communautés de zooplancton crustacés issues d'une même métacommunauté engendrait des différences d'espèces et de traits le long d'un gradient de carbone organique dissous trouvé naturellement dans les paysages tempérés nordiques. Le présent travail est réalisé selon les hypothèses de départ portant sur le paradigme de triage des espèces d'une métacommunauté en présence de sources d'habitats environnementalement hétérogènes. Ceci, parce que les espèces et les populations de ces différentes sources d'habitats ont des tolérances écologiques optimisées en fonction des conditions environnementales de leur habitat d'origine ou de leur source d'habitat.

Pour répondre à cet objectif, la migration de communautés de zooplancton crustacés issues de différentes sources d'habitats a été manipulée expérimentalement afin de vérifier la réponse relative des différentes sources de zooplancton sous des conditions à fortes ou faibles concentrations de COD. Pour les raisons mentionnées précédemment, la substance SuperHume a été choisie comme méthode de brunification de l'eau. Cette étude unique se concentre sur les communautés et les populations de zooplancton le long d'un gradient de COD du paysage afin de comprendre de quelle manière les différentes sources des communautés peuvent moduler les réponses de métacommunautés face aux apports terrestres modifiés des lacs prévus en lien avec les changements climatiques.

Ce mémoire est composé d'un seul article, présenté au chapitre 1, dans lequel sont dévoilés les résultats obtenus pour la totalité de l'expérience effectuée à l'été 2012. La présente introduction vise à détailler les concepts sous-tendant ce projet et à établir les déficits existants dans le domaine d'étude des métacommunautés, auquel ce projet

expérimental tentera d'apporter sa part de découvertes. Le chapitre 1 précède une conclusion plus générale qui revient sur les points les plus importants de l'étude et présente une ouverture sur de nouvelles approches pouvant être utilisées dans de futurs travaux.

CHAPITRE I

LANDSCAPE-LEVEL VARIATION IN A CRUSTACEAN ZOOPLANKTON METACOMMUNITY IN FACE OF HUMIC STRESS

Marilyne Robidoux^{1,2,3}, Paul del Giorgio^{1,2} and Alison M. Derry^{1,2,3}

¹ Department of Biological Sciences, University of Quebec at Montreal (UQAM),
P.O. Box 8888, Succ. Centre-Ville, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3P8.

² Groupe de recherche interuniversitaire en limnologie et en environnement
aquatique (GRIL)

³ Centre de la science de la biodiversité du Québec (CSBQ)

1.1 ABSTRACT

Environmental filtering of species and phenotypes along landscape gradients may adaptively pre-dispose or disadvantage communities and populations in face of a related local stressor. Our study uniquely considered population-level differences among regional zooplankton communities from a north temperate freshwater landscape gradient in dissolved organic carbon (DOC) in response to a local humic stressor. If zooplankton are pre-adapted to different ambient levels of DOC on the landscape, then we anticipated that populations from DOC-rich lakes would maintain higher abundance and larger body size in face of experimental browning compared to populations from DOC-poor lakes. We tested this hypothesis by exposing replicate zooplankton communities from DOC-rich and DOC-poor lakes to simulated browning versus clear water in a common garden field experiment. We conducted a 2 x 2 x 3 factorial-design field transplant experiment with zooplankton communities from replicate DOC-rich ($> 8.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and DOC-poor ($< 3.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) freshwater Laurentian source lakes (Québec, Canada) over eight weeks. There were two fixed effects: water treatment (brown water versus clear water) and zooplankton source (DOC-rich versus DOC-poor source zooplankton). Lake source was included as a random variable in the model. DOC addition in enclosures was achieved through the use of a peat-derived substance, SuperHume. We detected phenotypic differences among lake populations in the body size of a widely distributed calanoid copepod (*Leptodiaptomus minutus*) between DOC-rich and DOC-poor Laurentian source lakes. However, we found no evidence to support the hypothesis that crustacean zooplankton populations from DOC-rich lakes maintain higher abundance in face of browning from a humic stressor compared to populations from DOC-poor lakes. Source effects in abundance were only detected for two species (*L. minutus* and *Acanthocyclops robustus*) for which DOC-rich source populations maintained lower abundance than DOC-poor source populations in face of the humic stressor – the opposite of what was expected from our hypothesis. The humic stressor negatively influenced the total abundance of all crustacean zooplankton species examined, and favoured larger individuals from both DOC-rich and DOC-poor zooplankton sources. Both physiological mechanisms and food web effects likely operate simultaneously on zooplankton in DOC-rich lakes to lead to larger individual body size of copepods compared to populations in DOC-poor lakes. Larger individual body size may be linked with other traits such as fecundity and time to reproduction, which have the potential to affect population demographics and community interactions. Future work directed to understanding population-level and intraspecific body size variation of zooplankton along freshwater DOC landscape gradients could prove insightful for our knowledge of ecological and evolutionary responses to lake browning.

Keywords: body size, crustacean zooplankton, dissolved organic carbon, freshwater, humic stressor, landscape gradient

1.3 INTRODUCTION

Heterogeneous landscapes can present spatially-structured variation in ecological selection on the species composition of communities (Holyoak *et al.*, 2005) and the phenotypes of populations (Hanski and Gaggiotti, 2004). Environmental filtering of species and phenotypes along landscape gradients may adaptively pre-dispose or disadvantage communities and populations in face of a related local stressor (Logue *et al.*, 2011 ; Urban *et al.*, 2008). Many metacommunity studies have considered species-level consequences of spatial environmental heterogeneity and dispersal (Logue *et al.*, 2011), but there remains a need to incorporate spatially-explicit population-level work to understand the distribution of phenotypic differences across landscape gradients among whole-community assemblages (Urban *et al.*, 2008). Our study uniquely considers population-level differences among zooplankton communities from a north temperate freshwater landscape gradient in dissolved organic carbon (DOC) in response to a local humic stressor.

Zooplankton play a key role in aquatic ecosystems because they transfer carbon from primary producers to higher trophic levels (Thorp and Covich, 2010). In DOC-rich freshwater habitats, DOC can limit zooplankton communities from a bottom-up resource perspective by shading phytoplankton communities (Ask *et al.*, 2012), and can potentially influence the phenology of algal blooms that affect spring emergence of different zooplankton groups (Nicolle *et al.*, 2012). At the same time, DOC can also act as a resource to zooplankton by increasing bacterial productivity (Jansson *et al.*, 2000 ; Lennon and Pfaff, 2005). A growing number of studies have showed that terrestrially-derived, allochthonous DOC can play a role in aquatic food webs as a resource subsidy to consumers such as zooplankton via heterotrophic upgrading of bacteria (Carpenter *et al.*, 2005 ; Karlsson *et al.*, 2007 ; Cole *et al.*, 2011). Zooplankton responses to shifts in the relative importance of autochthonous (algal, macrophytes) versus allochthonous (terrestrial organic carbon) resources are taxon-

dependant and based on their mode of grazing (Karlsson *et al.*, 2007). For example, while cladocerans are passive feeders that can feed directly on bacteria (Riemann, 1985), calanoid copepods actively select high-quality algal prey and avoid bacteria that are too small to ingest (Pace *et al.*, 1990 ; Zollner *et al.*, 2009). Moreover, DOC can influence zooplankton communities from a top-down predation perspective. In DOC-rich waters, zooplankton communities shift to larger species because visually-feeding fish become less efficient predators and indirectly facilitate predation of zooplankton by chemo-sensory-feeding invertebrates (*Chaoborus*) (Wissel and Boeing, 2003). Further, DOC can act directly on the physiological tolerances of zooplankton by altering internal biochemical stress responses (Steinberg *et al.*, 2006). Therefore, it is not surprising that DOC is an important spatial factor for structuring zooplankton communities across north temperate lake landscape gradients (Beisner *et al.*, 2006 ; Korosi *et al.*, 2008 ; Derry *et al.*, 2009 ; Shurin *et al.*, 2010).

While a considerable number of studies have addressed the relationship of DOC with zooplankton communities, little work has focused on population-level responses of zooplankton to freshwater landscape gradients in DOC. Of work that has been done at the population-level, we have learned that carotenoid pigmentation in calanoid copepods functions as a balance of a plastic tradeoff between protection from UV exposure and predation vulnerability to visually-feeding fish in clear-water environments (Leech and Williamson, 2000 ; Hansson *et al.*, 2007 ; Hansson and Hylander, 2009 ; Tartarotti *et al.*, 2013). Moreover, in a study that compared a DOC-poor lake and a DOC-rich lake that both contained fish, there were differences in vertical migration in copepods and large cladocerans between the two lakes (Wissel and Ramacharan, 2003). However, no study to date has comprehensively compared population-level differences of entire crustacean zooplankton communities from replicate lakes along a DOC landscape gradient. This is despite the high potential for DOC to act as a powerful agent of selection across aquatic landscapes from a physiological perspective and by modulating bottom-up and top-down food web

interactions in aquatic communities (Steinberg *et al.*, 2006).

The objective of this study was to assess population-level differences in zooplankton communities from a north temperate freshwater landscape gradient in DOC in response to a simulated “browning” event. If zooplankton are pre-adapted to different ambient levels of DOC, then we anticipated that populations from DOC-rich lakes would maintain higher abundance and larger body size in face of experimental browning compared to populations from DOC-poor lakes. We tested this hypothesis by exposing replicate zooplankton communities from DOC-rich and DOC-poor lakes to simulated browning versus clear water in a common field garden experiment. Studies of north-temperate lakes support a general pattern of browning from increased terrestrial inputs of DOC in association with changing precipitation patterns and climate change (Zhang *et al.*, 2010 ; Larsen *et al.*, 2011). An improved understanding of population-level differences in zooplankton communities along natural DOC gradients would provide insight into the capacity of zooplankton community assemblages to respond to browning associated with humic stress.

1.3 METHODS

1.3.1 Study site and field experimental design

North temperate freshwater landscapes are characterized by broad natural gradients in DOC as a result of variation in watershed properties, the spatial configuration and composition of vegetation within watersheds, hydrology, and within-lake processes (Canham *et al.*, 2004). In the Laurentian Hills of Québec, Canada, this landscape-level variation in DOC ranges from 3.0 to 15.5 mg·L⁻¹. To test our hypothesis, zooplankton communities from six DOC-rich lakes (> 8.5 mg·L⁻¹) and six DOC-poor (< 3.5 mg·L⁻¹) circum-neutral (pH>6), freshwater source lakes (Table 1) from this Laurentian freshwater DOC gradient were transferred to a common garden field

experiment. The experiment was comprised of 36 *in situ* mesocosms enclosures in a clear, ultra-oligotrophic lake from June to Sept. 2012 (Lac Violon; 45°56'31" N, 74°05'20" W ; Table 1). The experiment was a 2 x 2 x 3 factorial design with $n=3$ replicates (Fig. S1 in Appendix A). It consisted of two fixed effects that each had two treatment levels: i) water treatment (decrease or increase of DOC relative to zooplankton source conditions) and ii) nearby regional source zooplankton communities (three DOC-poor concentration lakes ($< 3.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) versus three DOC-rich concentration lakes ($> 8.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Of the two levels within the water treatment, clear-water conditions ($\text{DOC} = 3.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) were attained in half of the enclosures with 54- μm -filtered water taken directly from Lac Violon. In the other half of enclosures, DOC-enrichment, characterized as brown water treatment ($\text{DOC} = 15.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), was achieved by addition of SuperHume (<http://www.earthcrew.com/SuperHume.htm>), a naturally-occurring humic substance that has recently been used for studying ecological consequences of terrestrial dissolved organic carbon in aquatic food webs (Lennon *et al.*, 2013). Lake source was included as a random variable in the model (3 different lake sources per zooplankton source category).

The mesocosms were suspended in Lac Violon at a depth of 8 m on anchored, floating rafts, and were representative of epilimnetic conditions within this lake. Each mesocosm was one meter in diameter and six meter in length, filled with double-screened (100 μm and then 54 μm Nytex mesh) epilimnetic water from Lac Violon, to remove crustacean zooplankton but to allow most algal species to pass through. They were filled up to a volume of approximately 5000 L on June 14 and 15, 2012, and phytoplankton were allowed to equilibrate for one week before stocking with zooplankton. While half of the enclosures did not receive any further water treatment, an increase in DOC in the second half of the enclosures was achieved by two subsequent additions of the agricultural additive SuperHume® (first addition in same time than water filling (June 14 and 15, 2012), second addition after one week of settling from the first addition (June 23, 2012) to reach the desired concentration of

15.0 mg·L⁻¹). The SuperHume was added as a liquid concentrate and well mixed in the enclosures at the time of water filling. It raised the DOC concentration from 3.5 ± 0.5 mg L⁻¹ to 14.9 ± 1.8 mg L⁻¹ without causing any humic-associated acidification of water (see results, physico-chemical section). On June 21-22, 2012, zooplankton were collected for inoculation in mesocosms at equivalent concentrations to those found in their respective source lake. Live epilimnetic zooplankton communities were collected from source lakes by vertical tows with 30 cm diameter 54 µm Nitex nets and transferred into respective 20 L polyethylene containers (four containers had the equivalent for 5 000 L mesocosms stocking) that were stored inside coolers at approximately lake temperature. All zooplankton were gently stocked into randomly selected mesocosms with respect to water treatment within 5 hours of collection from the source lakes. We also collected one 5 m vertical haul from each source lake at the time of mesocosm stocking that was anaesthetized via carbon dioxide exposure and preserved in a buffered 4% sugar-formalin solution for later enumeration. Week 0 (July 2, 2012) of sampling occurred one week after the second addition of SuperHume. Sampling of physico-chemical conditions, basal resources, and zooplankton communities in each mesocosm was conducted every second week for 8 weeks in summer 2012 (end of the experiment on Sept. 3, 2012).

Table 1.1 Physical, chemical and biological characteristics of source lakes and incubation lake (CDOM: colored dissolved organic carbon, TP: total phosphorus, Chl α : chlorophyll a concentration, BP: bacterial production). Trophic classification is from (Wetzel, 2001).

Lake name	Zooplankton Source category	Lake source (Appendix 1)	Trophic classification	Lat. (N)	Long. (W)	Max depth (m)	DOC (mg L ⁻¹)	CDOM (Absorption 440 nm)	TP (µg L ⁻¹)	Secchi depth (m)	pH	Chl α (µg L ⁻¹)	BP (µg C L ⁻¹ day ⁻¹)
Clair Desmarais Tracy	DOC-poor	L1	Ultra-oligotrophic	46°05'	73°47'	24.3	2.96	0.01	4.57	6.00 ⁺	8.03	0.69	1.67
	DOC-poor	L2		43°10'	74°38'	33.1	2.85	0.001	3.77	6.00 ⁺	7.63	0.38	0.80
	DOC-poor	L3		45°55'	74°03'	24.5	3.04	0.00	3.50	5.50	7.72	0.65	5.67
À l'Ours	DOC-rich	L4	Mesotrophic	45°57'	74°03'	16.7	8.9	0.04	12.69	1.75	7.86	2.45	6.17
Pin Rouge	DOC-rich	L5	Mesotrophic	45°57'	74°02'	14.0	8.6	0.04	11.16	1.75	7.29	2.28	11.06
	DOC-rich	L6	Mesotrophic	45°58'	74°01'	-	9.6	0.05	20.68	1.25	7.43	2.73	15.39
Noir Violon	Incubation	-	Ultra-oligotrophic	45°56'	74°05'	22.5	3.5	0.01	3.90	5.50	7.55	0.66	1.17

* Secchi disc reached the lake bottom at the sampling site.

1.3.2 Physico-chemical conditions

Water chemistry was sampled from all mesocosm enclosures to ensure that target concentrations of DOC were sustained and did not drift significantly throughout the duration of the experiment. Water chemistry parameters included total phosphorus (TP), colored dissolved organic carbon or absorption at 440 nm (CDOM), dissolved organic carbon (DOC). Physical conditions were characterized with a multiparameter YSI Professional series sonde (model 10102030; Yellow Springs Inc.) and included temperature (T), dissolved oxygen (DO), pH and conductivity (C) at 0.5 m depth per mesocosm. In the laboratory, DOC concentrations of 0.45 μm filtered samples (surfactant-free membrane filters) were measured after acidification (phosphoric acid 5%) followed by sodium persulfate oxidation using a 1010 TOC analyzer (O.I. Analytical, College Station, TX, USA). The absorption at 440 nm (CDOM), used as measure of water colour, was measured on water samples with a 2 cm quartz cuvette in a BiochromUltrospec® 2100 pro spectrofluorometer (Cuthbert and del Giorgio, 1992). TP was measured spectrophotometrically on the same machine by the molybdenum blue method after persulfate digestion (Griesbach and Peters, 1991).

1.3.3 Basal resources

To measure responses of basal resources in presence and absence of DOC-enrichment, chlorophyll *a* (Chl*a*) was measured as an estimation of algal biomass, and bacterial production (BP) as an estimation of bacterial activity. Chl*a* was quantified through glassfiber filter (Whatman GF/F) filtration, hot ethanol extraction of the Chl*a* and the extraction was measured spectrophotometrically on a BiochromUltrospec® 2100 pro with a 10 cm quartz cuvette (Winterman and de Mots, 1965 ; Sartory and Grobelaar, 1984). Composition of phytoplankton communities in one replicate of each WT x ZS treatment combination were analysed at the midpoint of the experiment (week 4; methods included with Fig. 1.8 in Appendix C). Rates of

bacterial production (BP) were determined by incorporation of tritiated leucine (40 nM final concentration) in bacterial protein synthesis (Smith and Azam, 1992 ; Kirchman, 1993). The samples were incubated in the dark at *in situ* ambient air temperatures for 60 minutes, and incubation was stopped by adding 100% trichloroacetic acid (TCA). Samples were stored at 4°C prior to counting in a Packard Tri Carb Liquid Scintillation Analyzer, model 2800 TR. While bacterial production measurements were not incubated *in situ*, they reflect the recent history of the conditions in each individual mesocosm.

1.3.4 Crustacean zooplankton

Crustacean zooplankton were sampled from each mesocosm once every two weeks for 8 weeks from July 2 to September 3, 2012. Crustacean zooplankton were sampled by taking two vertical hauls from 5 m depth to the surface with a 15 cm diameter 54 µm mesh net (9% of enclosure volume). Zooplankton from both hauls were pooled, anaesthetized via carbon dioxide exposure, and preserved in a buffered 4% sugar-formalin solution for later enumeration. Crustacean zooplankton were identified and population abundances were counted using a high-resolution dissecting microscope (SZ2-IL-ST, Olympus SZ, Japan). Taxonomic keys used included Witty (2004) and Thorp, and Covich (2010) for general identification, and Smith, and Fernando (1978) for copepod identification. The taxonomic key of De Melo, and Hebert (1994) was used for the Bosminidae identification, and Haney *et al.* (2013) as visual general key. Calanoid and cyclopoid nauplii were combined. Crustacean zooplankton were enumerated with a protocol designed to target mature individuals that would be unambiguously identified to species, as well as to detect rare species (Girard and Reid, 1990). Subsamples (10 ml) were taken from a standardized 50 ml sample volume, and at least 250 individuals were counted so that no more than 50 copepodids per order and no more than 30 nauplii per order were included in the sum

to 250 individuals, even though more were enumerated. For estimating the total zooplankton community biomass, biomass of major taxonomic groups (calanoid and cyclopoid copepods and cladocerans), and species-specific biomasses per m^3 were calculated by using standard regression for biomass calculation from (Culver *et al.*, 1985).

Population-level differences in body size were focused on one specie that was prevalent across all water treatments and community sources throughout the experiment. This focal species was the calanoid copepod, *Leptodiaptomus minutus*. A photography of each adult individual was taken in each sample up to a maximum of 60 individuals with a 10 X dissecting microscope camera (SZ2-IL-ST, Olympus SZ, Japan Camera system Olympus DP21). Body size measurements were pooled across lake source replicates (Fig. 1.7 Appendix A) such that the minimum number of adults measured was 6 adults and the maximum number of adults measured was 190 for each lake source. Total length of adult copepods did not include the caudal setae, as instructed by McCauley (1984), and was measured from digital photographs using Olympus camera-microscope software (Olympus DP21-HS), an example is shown in Fig.1.1.

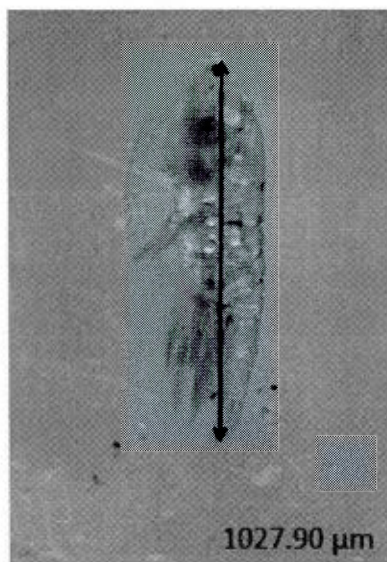


Fig. 1.1 Photograph of a measured *Leptodiaptomus minutus* (GR = 45X).

1.3.5 Statistical analyses

For physico-chemical conditions and basal resources in experimental mesocosms, the focus was on differences between treatments and time interactions with these treatments. This was tested using repeated-measures (RM)-MANOVAs. For physico-chemical variables, square root transformations were done for Chl a , TP, conductivity, DOC and CDOM to improve homogeneity of variance and normality. BP, DO and pH were not transformed before analyses because those data were normally distributed. If significant interactions between main effects and with time were detected, then we tested these with least square mean contrasts and Greenhouse Geisser tests (Quinn and Keough, 2002) in JMP 7 © 2007 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

For analyses of zooplankton communities and populations, we focused on initial (week 0) and final (week 8) effects rather than time interactions because we needed to remove initial effects of different zooplankton stocking densities associated with different source lakes from our response variables. Community-level response variables for zooplankton included species richness, Shannon-Weiner (S-W) diversity, and total biomass. Unidentifiable immature copepods (copepodite and nauplii) were excluded from all diversity and abundance analyses, but were included in analyses of biomass. Species-specific population-level response variables for included total abundance and *L. minutus* body size.

Initial effects of experimental treatments on zooplankton community and population response variables in week 0 were tested with 2 x 2 x 3 factorial ANOVA analyses that had water treatment and zooplankton source as fixed effects and lake source as a random effect as described above. Of zooplankton community variables, species richness and S-W diversity indices were not transformed because they met the normality of distribution and homogeneity of covariance matrices and meet the assumption. We removed effects of different zooplankton stocking densities from among source lakes in our response variable with the following equation: $\ln(N_i+1) - \ln(N_s+1)$ where N_i is the initial biomass or species-specific abundance in week 0 in a given mesocosm and N_s is the total biomass or species-specific abundance in a given source lake at the time of mesocosm stocking. Final effects of experimental treatments on zooplankton and community and response variables were tested in week 8 of the experiment with the 2 x 2 x 3 factorial-design ANOVA analyses described above. Any effects associated with different zooplankton stocking densities from among source lakes in week 0 were removed from the response variable with the following equation: $\ln(N_f+1) - \ln(N_i+1)$ where N_f is the final biomass or species-specific abundance in week 8 in a given mesocosm and N_i is the initial biomass or species-specific abundance in week 0 in a given mesocosm. Comparisons of body size were conducted for *L. minutus* copepods in the source lakes on week 0, and between week

0 and week 8 in the mesocosm enclosures. Log-transformed body size of *L. minutus* in source lakes on week 0 was compared between the two zooplankton source categories with a non-parametric Wilcoxon test on non-normally distributed data. Log-transformed *L. minutus* body size in experimental mesocosms were compared between week 0 and week 8 with a 2 x 2 x 2 factorial ANOVA in which main effects were water treatment, zooplankton source, and week. For body size analyses, body size measurements were pooled across mesocosm replicates for each lake source (Fig S1), and so lake source was not included as a random effect in this model. In all cases, post-hoc comparisons of significant interactions were done with Tukey HSD tests ($P < 0.05$ for significance), and all statistical analyses were conducted with JMP 7 © 2007 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

1.4 RESULTS

1.4.1 Physico-chemical conditions

Contrasting levels of water treatment were achieved by humic addition in half of the mesocosm enclosures (mean $\pm$ standard error (SE): brown water enclosures: $14.9 \pm 1.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ DOC versus clear water treatment enclosures: $3.5 \pm 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ DOC). These contrasting DOC concentrations were maintained throughout the duration of the experiment without any further humic addition after week 0 (WT main effect and WT*Time effect, Table S1 in Appendix B; Fig. 1.2a). Water colour (CDOM) followed a similar pattern as the DOC concentration and remained higher in the brown water enclosures compared to the clear water enclosures throughout the experiment (WT main effect and WT*Time effect, Table 1.5 in Appendix B; Fig. 1.2c). TP was slightly higher in brown water mesocosms and varied in time, but the DOC-rich zooplankton source also had a positive significant effect on the TP (WT main effect, WT*Time effect and ZS main effect, Table 1.5 in Appendix B; Fig. 1.2e)

possibly because of differences in nutrients among source lakes (more TP in DOC-rich lakes compared to DOC-poor lakes; Fig 1.2e; Table 1.5 in Appendix B) and water that was transferred to mesocosms in association with zooplankton stocking. Also, ultra-oligotrophic Lac Violon was likely sensitive to any TP addition given its ultra-oligotrophic state (Table 1.1). Dissolved oxygen ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) was higher in the DOC-poor mesocosms (WT main effect, Fig. 1.2b; Table 1.5 in Appendix B). The pH did not vary significantly through time and between water treatments (Fig. 1.2d; Table 1.5 in Appendix B). Conductivity was higher in DOC-rich enclosures, but varied through time and remained in the highly freshwater range (Fig. 1.2f; Table 1.5 in Appendix B). No effects of zooplankton source were detected on any of the physico-chemical conditions (except for TP) of the mesocosms (Table 1.5 in Appendix B).

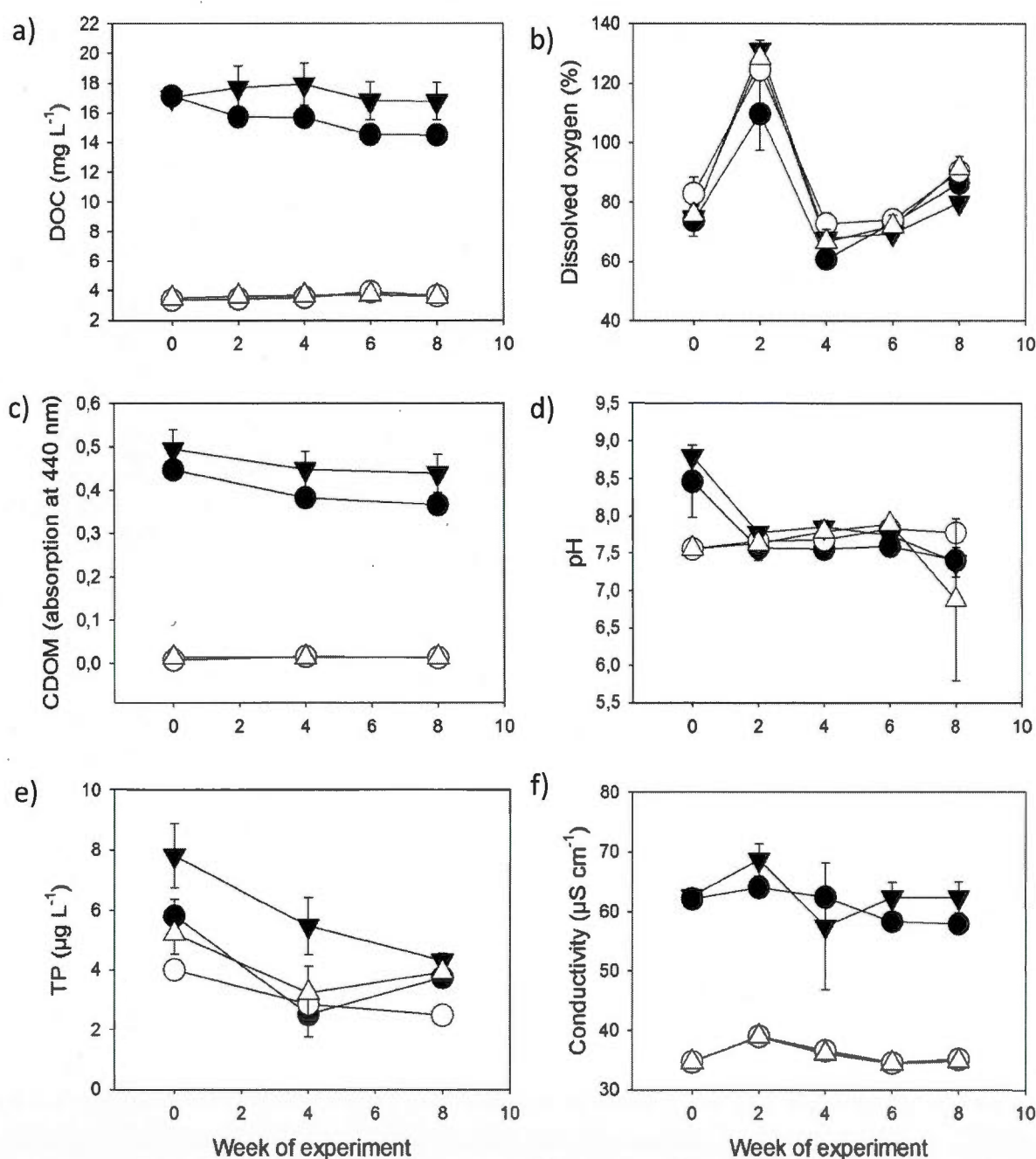


Fig. 1.2 Physico-chemical water conditions in enclosures over the 8 week duration of the experiment (mean $\pm$ standard error (SE)) of (a) dissolved organic carbon (DOC, mg·L⁻¹), (b) dissolved oxygen concentration (DO, mg·L⁻¹), (c) colored dissolved organic matter (CDOM, absorption at 440 nm), (d) pH, (e) total phosphorus concentration (TP, µg·L⁻¹) and (f) conductivity (µS·cm⁻¹).

1.4.2 Basal resources

Total algal biomass, as measured by chlorophyll *a* concentration, did not significantly respond to humic addition over the 8-week experiment (Fig. 1.3a; Table 1.5 in Appendix B). For most phytoplankton species, the phytoplankton community was similar among experimental treatments at week 4. However, enclosures with brown water were dominated by cyanobacteria (*Microcystis* sp.) compared to clear water enclosures (Fig. 1.8 in Appendix C). Within the clear water treatment, enclosures with DOC-rich source zooplankton had a greater abundance of the non-edible green algae *Mougeotia* sp. (Fig. 1.8 in Appendix C). Enclosures with DOC-poor source zooplankton were characterized by a higher abundance of the dinoflagellate *Peridinium* sp., the filamentous cyanobacteria *Pseudanabaena* sp., and the green algae *Gloeocystis* sp. (Fig. 1.8 in Appendix C).

Bacterial production increased at the start of the experiment in response to humic addition (WT) and these higher rates of production were maintained in the brown water enclosures for up to 6 weeks. After six weeks, BP declined in the brown water enclosures and became similar to the clear water enclosures (Fig. 1.3b; Table 1.5 in Appendix B).

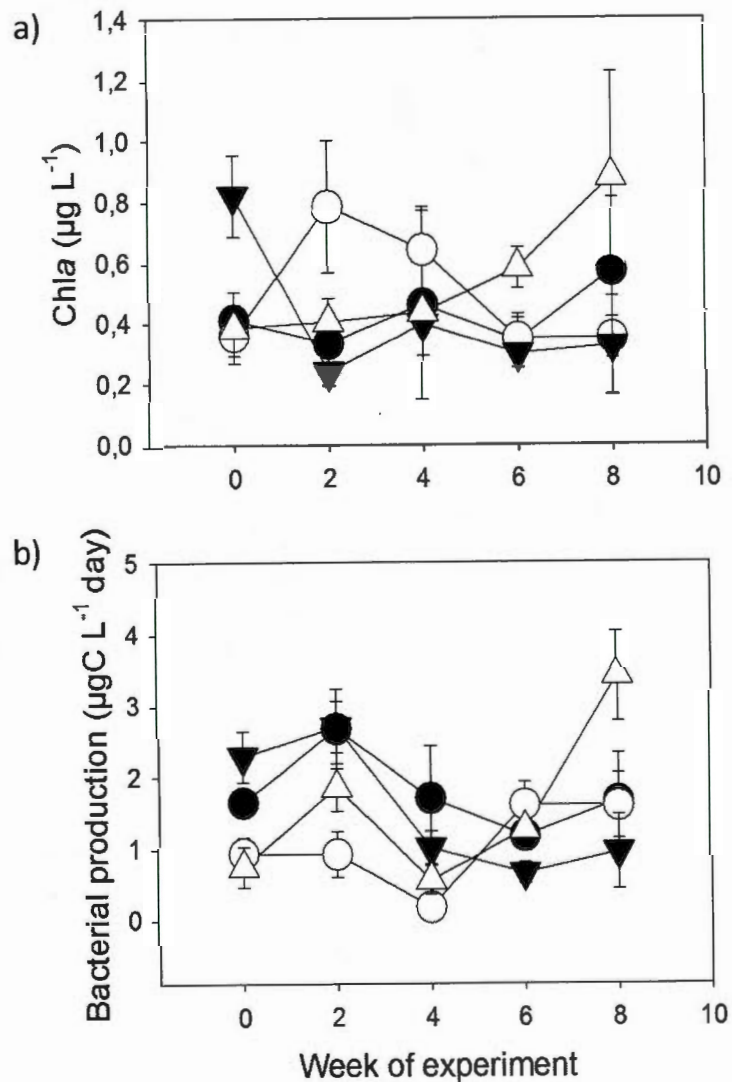


Fig. 1.3 Basal resources in enclosures over the 8 week duration of the experiment (mean $\pm$ SE) of (a) total chlorophyll *a* concentration (Chla, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and (b) bacterial production ($\mu\text{g C}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{day}$).

1.4.3 Zooplankton results

Water treatment did not affect Shannon-Weiner diversity and species richness in week 0 (Fig. 1.4a, b). With the exception of *Acanthocyclops robustus* abundance, total crustacean zooplankton community biomass (Fig. 1.4c) and total abundance of

the other four focal species (Fig. 1.4d, e, f, h) decreased in brown water compared to clear water in week 0 (Table 1.2, WT main effect). No zooplankton source effects were detected for any of the response variables in week 0 (Table 1.2). However, an interaction between water treatment and zooplankton source was detected for *L. minutus* abundance in week 0 because DOC-poor source populations had higher abundance in face of the humic stressor compared to DOC-rich source populations, and this difference was absent in the clear water treatment (Table 1.2, WT x ZS; $P < 0.05$, Tukey HSD; Fig. 1.4g).

By the end of the experiment (week 8), the brown water treatment caused a reduction in Shannon-Weiner diversity and species richness (Table 1.3, WT main effect; Fig. 1.5a,b), but did not cause any further reduction in total zooplankton community biomass or in abundances of *Cyclops scutifer*, *Leptodiptomus minutus*, and *Bosmina longirostris* (Table 1.3; Fig. 1.5c, f, g, h). By week 8, the humic stressor reduced *A. robustus* as well as *Tropocyclops prasinus mexicanus* abundance (Table 1.3, WT main effect; Fig. 1.5d, e). However, for *A. robustus*, the response in abundance to water treatment depended on zooplankton population source: DOC-poor source populations occurred in greater abundance than DOC-rich populations in face of the humic stressor, and the converse pattern was found under clear-water conditions where DOC-rich source populations were more abundant (Table 1.3, WT x ZS; $P < 0.05$, Tukey HSD; Fig. 1.5e).

Table 1.2 Initial (week 0) results for zooplankton community metrics (Shannon-Wiener (S-W) diversity, species richness and total biomass) and population responses (abundance of the focal species: $\ln(N_i+1)-\ln(N_s+1)$). The 5 focal species were *Tropocyclops prasinus mexicanus*, *Cyclops scutifer*, *Acanthocyclops robustus*, *Leptodiptomus minutus* and *Bosmina longirostris*. Results are from a 2 x 2 x 3 factorial ANOVA with WT (water treatment) and ZS (zooplankton source) as fixed effects, and lake source as a random effect (lake-specific P-values not shown here).

ANOVA	Community			Population				
	S-W diversity	Species richness	Total biomass	<i>T.p. mexicanus</i>	<i>C. scutifer</i>	<i>A. robustus</i>	<i>L. minutus</i>	<i>B. longirostris</i>
df effect	3	3	1	1	1	1	1	1
df error	28	28	24.08	27.65	27.33	27.77	27.15	27.39
Water Treatment (WT)								
<i>F</i>	—	—	195.77	30.73	4.50	—	81.71	17.03
<i>P</i>	—	—	<0.01	<0.01	0.04	—	<0.01	<0.01
Zooplankton Source (ZS)								
<i>F</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
WT x ZS								
<i>F</i>	—	—	4.80	—	—	—	9.27	—
<i>P</i>	—	—	0.04	—	—	—	<0.01	—

Table 1.3 Final (week 8) results for zooplankton community metrics (Shannon-Wiener (S-W) diversity, species richness and total biomass) and population responses (abundance of the focal species: $\ln(N_i+1)-\ln(N_s+1)$). The 5 focal species were *Tropocyclops prasinus mexicanus*, *Cyclops scutifer*, *Acanthocyclops robustus*, *Leptodiptomus minutus* and *Bosmina longirostris*. Results are from a 2 x 2 x 3 factorial ANOVA with WT (water treatment) and ZS (zooplankton source) as fixed effects, and lake source as a random effect (lake-specific P-values not shown here).

ANOVA	Community			Population				
	S-W diversity	Species richness	Total Biomass	<i>T.p. mexicanus</i>	<i>C. scutifer</i>	<i>A. robustus</i>	<i>L. minutus</i>	<i>B. longirostris</i>
df effect	1	1	1	1	1	1	1	1
df error	23.64	23.27	21.35	23.14	22.47	23.43	23.70	23.32
Water Treatment (WT)								
<i>F</i>	9.38	4.61	—	5.97	—	24.96	—	—
<i>P</i>	<0.01	0.04	—	0.02	—	<0.01	—	—
Zooplankton Source (ZS)								
<i>F</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
WT x ZS								
<i>F</i>	—	—	—	—	—	12.16	—	—
<i>P</i>	—	—	—	—	—	<0.01	—	—

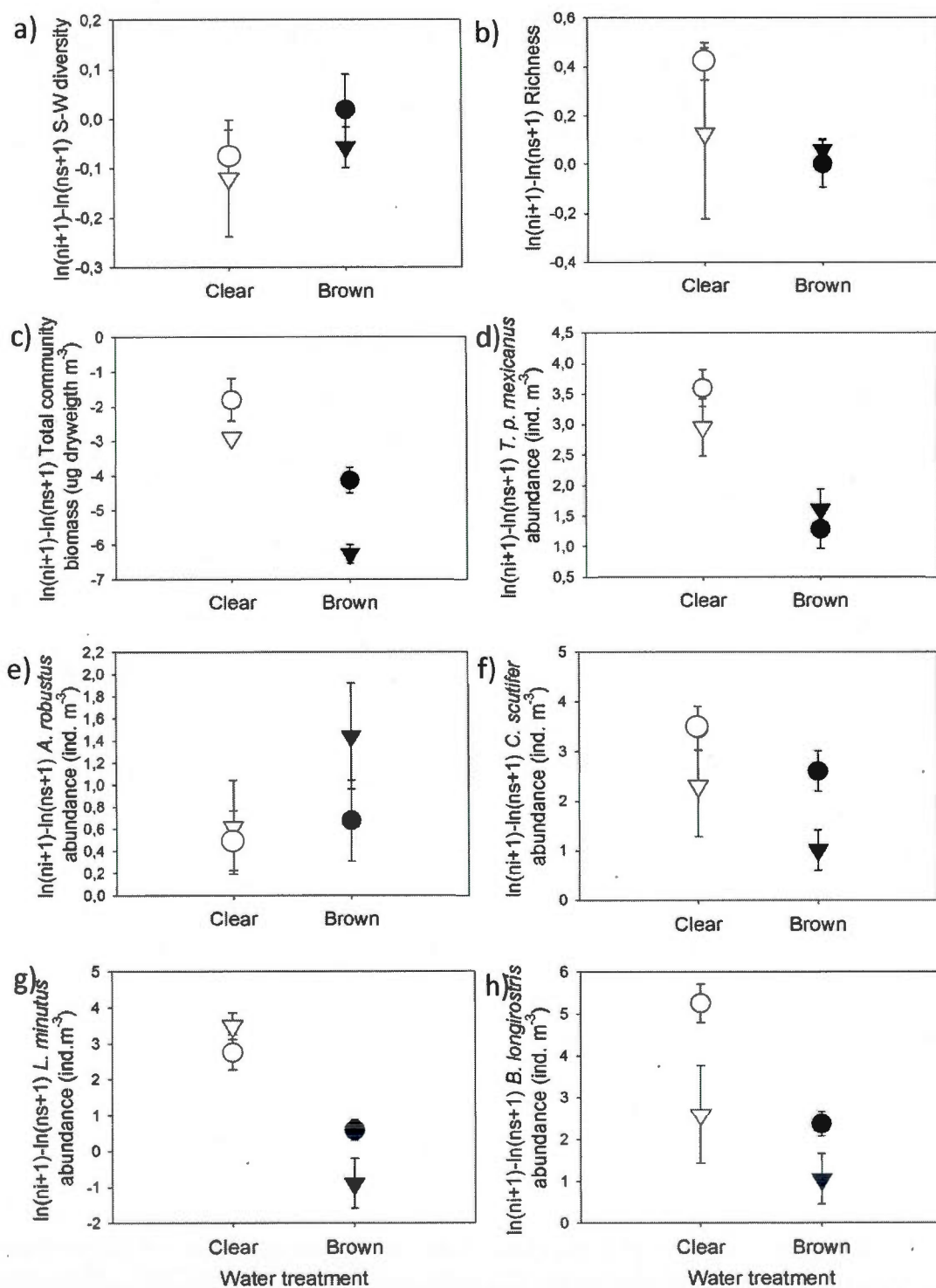


Fig. 1.4 Initial (week 0) results for zooplankton community metrics (Shannon-Wiener (S-W) diversity, species richness and total biomass) and population responses (abundance of the focal species: $\ln(N_{i+1}) - \ln(N_{s+1})$). The 5 focal species were *Tropocyclops prasinus mexicanus*, *Cyclops scutifer*, *Acanthocyclops robustus*, *Leptodiatomus minutus* and *Bosmina longirostris*. Scales are different from one figure to another.

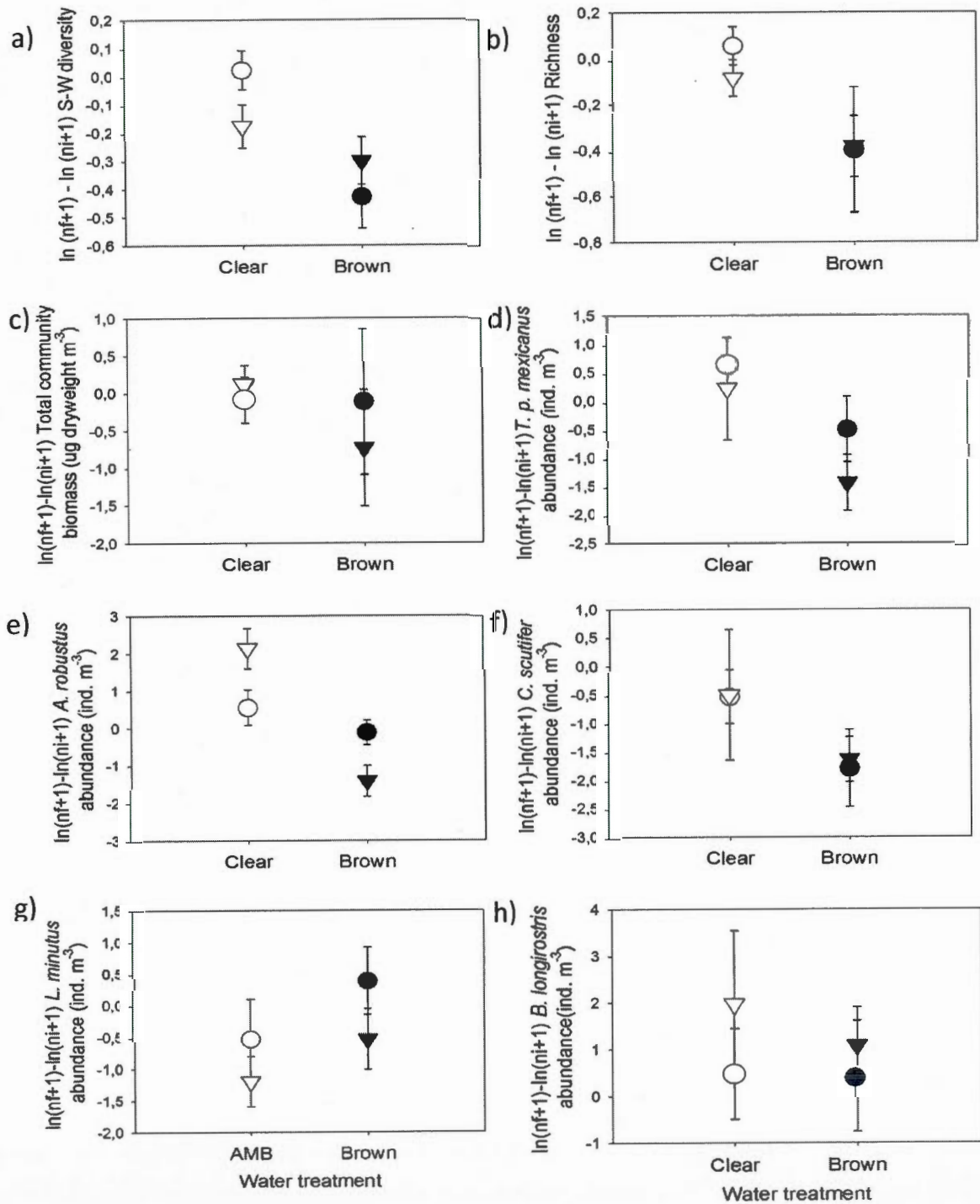


Fig. 1.5 Final (week 8) results for zooplankton community metrics (Shannon-Wiener (S-W) diversity, species richness and total biomass) and population responses (abundance of the focal species: $\ln(N_f+1) - \ln(N_i+1)$). The 5 focal species were *Tropocyclops prasinus mexicanus*, *Cyclops scutifer*, *Acanthocyclops robustus*, *Leptodiptomus minutus* and *Bosmina longirostris*. Scales are different from one figure to another.

L. minutus adults were larger from DOC-rich zooplankton sources compared to DOC-poor zooplankton sources. This was evident in populations collected directly from source lakes in week 0 (Fig. 1.6a): individuals from DOC-rich lakes ($923.5 \pm \text{SE } 10.7 \mu\text{m}$) were significantly larger than individuals from DOC-poor lakes ($822.6 \pm \text{SE } 10.3 \mu\text{m}$) (Wilcoxon test, $Z[1, 203] = -5.91$, $P < 0.01$; Fig. 1.6a). This pattern of body size differences between zooplankton sources was conserved over the 8-week duration of the experiment (Table 1.4, ZS main effect; Fig. 1.6b). In the experiment, the humic stressor selected for larger individuals across zooplankton sources (Table 1.4, WT main effect; Fig. 1.6b).

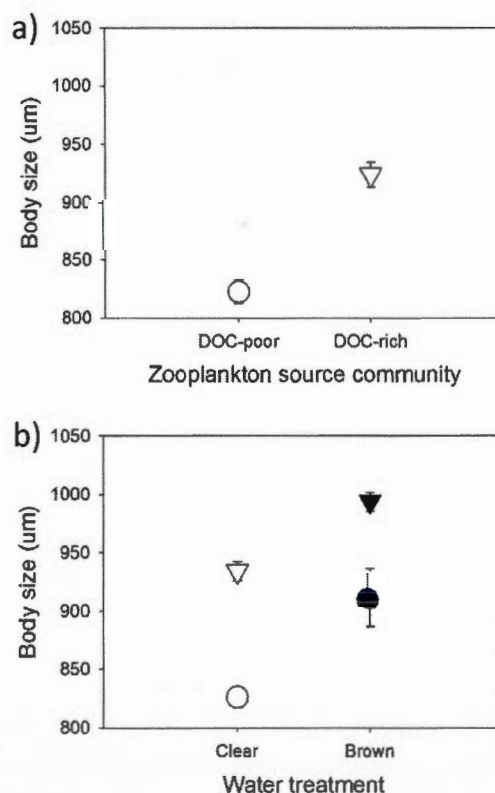


Fig. 1.6 Body size of *Leptodiaptomus minutus* (μm) among DOC-rich and DOC-poor zooplankton source categories in source lakes in week 0, and b) among experimental treatments in mesocosms at week 8 of the experiment: water treatment (WT: brown vs. clear) and zooplankton source (DOC-rich versus DOC-poor).

Table 1.4 Comparison of *Leptodiaptomus minutus* body size (μm) among experimental treatments and between initial week 0 and final week 8 of the mesocosm experiment. Results are from a 2 x 2 x 2 factorial ANOVA with water treatment (WT), zooplankton source (ZS) and week as main effects. Measurement of *L. minutus* body size were pooled among lake source replicates for each given zooplankton source replicate.

ANOVA	<i>L. minutus</i>
df effect	1
df error	463
Water Treatment (WT)	
<i>F</i>	19.97
<i>P</i>	<0.01
Zooplankton Source (ZS)	
<i>F</i>	33.93
<i>P</i>	<0.01
Week	
<i>F</i>	75.68
<i>P</i>	<0.01
WT x ZS	
<i>F</i>	—
<i>P</i>	—
WT x ZS x Week	
<i>F</i>	—
<i>P</i>	—

1.5 DISCUSSION

We detected population-level phenotypic differences in the body size of a widely distributed calanoid copepod (*Leptodiaptomus minutus*) between DOC-rich and DOC-poor Laurentian source lakes. However, we found no evidence to support the hypothesis that crustacean zooplankton populations from DOC-rich lakes maintain higher abundance in face of browning from a humic stressor compared to populations from DOC-poor lakes. Source effects in abundance were only detected for two species (*L. minutus* and *Acanthocyclops robustus*) for which DOC-rich source populations maintained lower abundance than DOC-poor source populations in face of the humic stressor – the opposite of what was expected from our hypothesis. The humic stressor negatively influenced the total abundance of all crustacean zooplankton species examined, and favoured larger individuals from both DOC-rich and DOC-poor zooplankton sources by the end of the experiment. Our results are not supportive of the use of SuperHume as substitute agent for large-scale experimental manipulation of natural allochthonous DOC in lakes – a substance that has been recently promoted for this purpose (Lennon *et al.*, 2013). Our study does provide a novel contribution to the scientific literature because few other works have considered population-level differences in zooplankton across freshwater DOC gradients, especially at the community level and across replicate lakes.

1.5.1 Population-level differences in body size

Populations of the calanoid copepod *Leptodiaptomus minutus* from DOC-rich lakes were comprised of larger adults compared to DOC-poor lakes (Fig. 1.6a). These zooplankton source differences were conserved throughout the 8-week duration of the experiment irrespective of water treatment (Fig. 1.6b). A similar pattern in body size as what we observed for *L. minutus* copepods has also been reported for *Bosmina* sp. across a freshwater DOC landscape gradient (Korosi *et al.*, 2008). All of the source

lakes included as part of our experiment contained fish communities. Other research has indicated that DOC-rich environments can provide a refuge to zooplankton by reducing the efficacy of predation by visually-feeding fish, allowing larger body sizes and higher abundances in these habitats compared to DOC-poor habitats (Wissel and Boeing, 2003). Likely at least one generation of *L. minutus* occurred during the experiment (generation time is approximately one month), and so body size differences that were maintained throughout the 8-week experiment could be a result of genetic differences, maternal effects, or both (Kawecki and Ebert, 2004). Future research could address the potential for adaptive tradeoffs in growth and reproduction associated with differences in copepod body size at maturity among clear DOC-poor and brown DOC-rich habitats. This mechanistic approach for understanding patterns of copepod body size across DOC gradients could prove important for zooplankton community responses to browning because of the negative association of body size with key demographical traits, such as population size and population growth rate (Jansson *et al.*, 2007).

1.5.2 Zooplankton source effects in population abundance

Zooplankton source effects in population abundance were detected in copepods but not cladocerans. Copepods are generally known to have more dispersal-limited capabilities than cladocerans (Bilton *et al.*, 2001 ; Gray and Arnott, 2011), and so would more likely to have phenotypic differences among populations in response to landscape environmental heterogeneity compared to taxa with greater dispersal capacity (Kawecki and Ebert, 2004). Population-level responses in abundance to the humic stressor that were dependant on zooplankton source were only detected in only two copepod species: *L. minutus* (week 0) and cyclopoid *Acanthocyclops robustus* (week 8). For these two species, DOC-rich source populations maintained lower abundance than DOC-poor source populations in face of the humic stressor – the opposite of what was expected from our hypothesis. In contrast, under clear-water

conditions, DOC-rich populations were more abundant than the DOC-poor populations (*A. robustus*; week 8, Fig. 1.5e), or no differences were detected between zooplankton sources (*L. minutus*; week 0, Fig. 1.4g). One possible explanation is that DOC-rich source copepods were in poorer condition to face a humic stressor because of a higher proportion of lower-quality bacterial resources compared to PUFA-rich algal resources in the zooplankton diet in the DOC-rich source lakes. This explanation would require verification with additional research. Numerous isotope-based food web studies have found evidence of varying but significant levels of allochthony in all zooplankton groups (Rautio *et al.*, 2011), although cladocerans are more prone to direct bacterial ingestion compared to copepods in DOC-enriched lakes (Karlsson *et al.*, 2007 ; Faithfull *et al.*, 2012).

1.5.3 Water treatment effects

The humic stressor unexpectedly negatively influenced the total abundance of all crustacean zooplankton species examined (Fig. 1.4 and 1.5), and selected for larger individuals of *L. minutus* copepods from both DOC-rich and DOC-poor zooplankton sources by the end of the experiment (Fig. 1.6b). This result was unexpected because DOC can act as a resource in ultra-oligotrophic lakes such as Lac Violon because of its association with phosphorus (Jones *et al.*, 2012) and bacterial productivity (Jansson *et al.*, 2000 ; Lennon and Pfaff, 2005). No acidification occurred in the enclosures as a result of the humic addition (Fig. 2). Zooplankton in the brown water treatment were unlikely limited by algal or bacterial food resources. No differences in chlorophyll *a* were detected among water treatments (Fig. 1.3a), and most phytoplankton species were similar in all enclosures at week 4 (Fig. 1.8, Appendix C). Bacterial productivity was higher in the brown water treatment up to at least the mid-point of the experiment (Fig. 1.3b). Instead, the humic addition appeared to act as a physiological stressor because it immediately reduced zooplankton survival and

biomass in week 0 of the experiment compared to the clear water enclosures (Fig. 1.4). A selection towards larger body size in brown water treatments for both DOC-rich and DOC-poor source *L. minutus* populations was likely a stress response to the humic addition in which the strongest and most robust individuals were favoured by week 8 of the experiment. A shift towards larger body size in presence of high DOC but absence of fish has also been experimentally observed in the marine cladoceran, *Moina macrocopa* (Suhett *et al.*, 2011). Being bigger can be adaptive in stressful environments because of higher competitive ability, starvation resistance, and greater energy reserves (Peters, 1983).

Our study draws attention to the idea the type of DOC addition in experiments can be important for the response of zooplankton communities to simulated browning. This idea is supported by conflicting results from other studies that have manipulated DOC with different methods. For instance, calanoid copepod abundance can decrease (transplant of natural DOC-rich surface water; Nicolle *et al.* (2012)), increase (glucose addition; Faithfull *et al.* (2012)) or stay the same (soil humic addition; Lefébure *et al.* (2013)). We manipulated brown water with a naturally-occurring humic substance, SuperHume, for which a laboratory study found no toxic effects on *Daphnia* sp. and similar chemical properties to DOC in aquatic ecosystems (Lennon *et al.*, 2013). SuperHume is a peat carbon source that is derived from Leonardite and is primarily composed of recalcitrant terrestrial humic molecules (Lennon *et al.*, 2013). The chemical properties and decomposition pathways of recalcitrant peat are dissimilar to recently-produced allochthonous DOC in temperate watersheds that is highly labile and bioavailable (Berggren *et al.*, 2010a). It is questionable how representative SuperHume addition is of terrestrially-derived carbon in temperate lakes, and may explain the unexpected zooplankton mortality to DOC addition that we observed in our experiment.

1.5.4 Conclusion

Brown water present in DOC-rich source lakes and in our humic treatment both favoured larger copepods over smaller individuals at maturity. This pattern likely occurred for different reasons in source lakes and in experimental enclosures. In source lakes, while larger body size has many adaptive advantages (Peters, 1983), it can come at the cost of greater predation risk in DOC-poor lakes where visual fish predation is more efficient (Wissel and Boeing, 2003). Given that the size differences between DOC-rich and DOC-poor source *L. minutus* copepods were conserved after eight weeks in the enclosures, future work could examine the genetic versus plastic basis of this trait. Other characteristics related to body size, such as fecundity and time to reproduction, would also be important to consider because they have the potential to affect population demographics and community interactions along DOC gradients (Jansson *et al.*, 2007). In the experimental enclosures with brown water, shifts to larger body size in both DOC-rich and DOC-poor source copepods were likely a result of size-related mortality. Smaller, less robust individuals were likely killed off in both zooplankton source types, especially in view of the negative effects of the experimental humic addition on zooplankton community diversity and biomass. While DOC-rich habitats with fish may produce larger individuals, our results are suggestive that DOC-rich source populations of two copepod species (*L. minutus* and *A. robustus*) may be in worse condition to face a stressor such as the humic addition in this experiment compared to DOC-poor source populations. An extension of this work could examine the potential consequences of differences in basal resources between DOC-rich and DOC-poor environments on the nutritional state of zooplankton, and how it influences zooplankton response in face of an abiotic or physiological stressor. Future work directed to understanding population-level variation in body size and nutritional state of zooplankton along freshwater DOC landscape gradients could prove insightful for our knowledge of ecological and evolutionary responses of aquatic organisms to lake browning.

1.6 ACKNOWLEDGMENTS

This research was made possible by a NSERC discovery grant and a FRQNT Nouveau Chercheur grant held by A. M. Derry. Research was also supported by a NSERC industrial chair held by P. del Giorgio (CarBBAS). M. Robidoux was supported by UQAM scholarships (FARE and Canadian Pacific), by Groupe de Recherche Interuniversitaire en Limnologie et en environnement aquatique (GRIL) and by Quebec Center for Biodiversity Science (QCBS). Access to Lac Violon was graciously provided by J.C. Odell. We thank the Station de Biologie des Laurentides (SBL; Université de Montréal) for field support. We are grateful for laboratory and field work helpers: C. Charette, A. Merante, K. Velghe, C. Bareille-Parenteau, C. Garcia Chavez, M. A. Rezende, G. Bilodeau, C. Lévesque, C. Soued, N. Fortin St-Gelais, M. Bogard, J. P. Niño Garcia, M. D'Amours and Robidoux and Derry families.

CONCLUSION

Les différences écologiques entre les communautés et les populations qui vivent au cœur de gradients naturels du paysage peuvent donner un aperçu des effets potentiels des changements environnementaux anthropiques si les perturbations locales se produisent aussi à échelle spatiale plus large. L'objectif de ce projet était de vérifier si la source des populations et des communautés de zooplancton crustacés issues d'une même métacommunauté engendrait des différences d'espèces et de traits le long d'un gradient de carbone organique dissous trouvé naturellement au sein du paysage tempéré nordique. Ceci est important pour comprendre si les différentes sources d'habitats des communautés et des populations selon un gradient de carbone organique dissous (COD) peuvent moduler les réponses de métacommunautés face aux modifications d'apports terrestres aux lacs prévus en lien avec les changements climatiques.

Il a été prédit que si le zooplancton est préadapté à différents niveaux ambiants de COD au sein du paysage, il est anticipé que les populations issues de lacs riches en COD devraient maintenir de plus grandes abondances et les individus devraient posséder de plus grandes tailles corporelles face à un brunissement expérimental en comparaison à des populations issues de lacs pauvres en COD. Les résultats obtenus avec la présente expérience démontrent une différence phénotypique entre les populations issues des deux types de lacs. En effet, la taille corporelle d'une espèce de calanoïde copépode largement distribuée en Amérique du Nord, *Leptodiaptomus minutus*, était plus grande pour les individus issus de lacs riches en COD en comparaison aux individus issus de lacs pauvres en COD. Les données analysées n'ont pu supporter l'hypothèse que les populations de zooplancton issues de communautés de lacs riches en COD peuvent maintenir une plus grande abondance face à un brunissement de l'eau en comparaison aux populations issues de lacs

pauvres en COD. Cet effet d'origine du zooplancton a été seulement détectée sur l'abondance de deux espèces; *L. minutus* et *Acanthocyclops robustus*, pour lesquels les populations issues de lacs riches en COD ont maintenu une abondance plus faible que les populations issues de lacs pauvres en COD face à un stresser humique. Le facteur de stress humique a négativement influencé l'abondance totale de toutes les espèces de zooplancton crustacés pélagiques examinés et a favorisé de plus grands individus autant pour les populations de *L. minutus* issues de lacs riches et pauvres en COD. Autant les mécanismes physiologiques que les effets du réseau trophique semblent avoir eu un impact sur le zooplancton issu de lacs riches en COD pour favoriser des tailles corporelles plus grandes en comparaison aux populations issues de lacs pauvres en COD. De plus grandes tailles corporelles individuelles peut être liées à d'autres traits tels la fécondité et le temps de reproduction, qui ont le potentiel d'affecter la démographie et les interactions au sein de la communauté.

La plupart des études effectuées sur le carbone organique dissous en milieu aquatique montrent que les lacs nordiques deviennent plus foncés à cause d'une augmentation d'apports terrestres de carbone en lien avec les changements climatiques. Les dernières découvertes à cet égard confirment également qu'une augmentation d'apport terrestre diminue généralement la production primaire et la disponibilité de la totalité des ressources de base (Ask *et al.*, 2012 ; Jones *et al.*, 2012) ainsi qu'une augmentation de la respiration (Ask *et al.*, 2012). Par contre, pour les lacs ultra-oligotrophiques, Jones *et al.* (2012) a observé une augmentation de ressources de base avec une concentration élevée en COD, laquelle est souvent corrélée avec une augmentation de phosphore total ayant dans une telle situation de faible productivité un effet appréciable de fertilisation sur le phytoplancton. Les caractéristiques physico-chimiques ultra-oligotrophiques du lac Violon où s'est déroulée l'expérience en mésocosme pourraient expliquer l'impossibilité à déceler les différences de concentration de chlorophylle *a* et de patron net de production bactérienne pour le présent projet. Si le COD augmente dans les lacs, les résultats obtenus dans la

présente expérience suggèrent que, si les lacs devenaient plus foncés (augmentation de COD), les conditions des lacs pour les organismes zooplanctoniques crustacés deviendraient plus difficiles pour la survie du zooplancton, allant en accord avec certains résultats de Nicolle *et al.* (2012) qui a observé une diminution de calanoïdes seulement en présence de forte concentration de COD. Cependant, cette expérience a tout de même pu démontrer que la taille corporelle de *L. minutus* varie en fonction de la concentration de COD; le zooplancton issue d'habitats d'eau claire a une plus grande taille corporelle en présence de forte concentration de COD alors que les populations de *L. minutus* issues d'habitats d'eau foncée semblent avoir une plus grande taille corporelle qu'en habitat d'eau claire. Wissel, and Boeing (2003) ont établi que l'assemblage en espèce d'une communauté zooplanctonique a changé des plus grandes vers les petites espèces lorsque le COD était en concentration élevée, potentiellement dû à la diminution de prédation visuelle par les poissons. Ce que la présente expérience a observé pour une espèce en particulier va à l'encontre de ce résultat. Cependant, certaines espèces ont déjà démontré avoir eu une plus grande taille corporelle en présence de forte concentration de COD; *Moina macrocopa* (Suhett *et al.*, 2011) et *Bosmina* sp. (Korosi *et al.*, 2008) corroborant avec la présente découverte sur la taille corporelle de *L. minutus*.

De futures recherches pourraient analyser les effets généraux du COD sur les populations et les communautés aquatiques, mais aussi déterminer l'influence potentielle de différents types de COD sur ces dernières. De plus, dans ce projet, il a été établi que la source des populations et des communautés du zooplancton présente une importance significative face à un gradient de COD. En effet, les filtres environnementaux initialement présents pour les communautés de zooplancton issues de différents types de lacs (foncés ou clairs) favorisent la sélection de différentes espèces de cyclopoïdes et supportent aussi le changement de taille corporelle des populations de *Leptodiaptomus minutus* (une espèce de copépode calanoïde très répandue en Amérique du Nord) selon la concentration en COD de leur

environnement. De futures études pourraient tester les mécanismes écologiques et évolutifs soulignant la sélection d'espèces au niveau des communautés et vérifier les compromis sélectifs de croissance et de reproduction associés au niveau des populations d'espèces communes à plusieurs communautés. Ces études seraient importantes pour aider à élucider les réponses des communautés de zooplancton locales face à un changement anthropique qui affecte la brunification des lacs nordiques.

La récente reconnaissance de l'importance de l'intégration de variation de traits intra-spécifiques (VIT) dans l'écologie des communautés présente une issue possible pour les prochains travaux de recherche portant sur les effets des changements environnementaux sur une métacommunauté (Albert *et al.*, 2011 ; Bolnick *et al.*, 2011). L'étude de la VIT n'a cependant jamais été réalisée en milieu lacustre sur des communautés zooplanctoniques soumises à un facteur de stress. Ainsi, la description des espèces pourrait être faite par leur caractéristiques biologiques en mesurant leurs traits fonctionnels qui sont des paramètres morphologiques (tel la taille corporelle), physiologiques ou comportementaux mesurables au niveau de l'individu. Ces traits contribuent à la survie de l'espèce autant directement (traits de performance) qu'indirectement (traits fonctionnels) et l'étude de la variation de certains traits fonctionnels peut permettre de décrire les activités biologiques d'un organisme, les interactions entre espèces comme la compétition et la prédation, ainsi que les propriétés des communautés et des écosystèmes (Violle *et al.*, 2007 ; Albert *et al.*, 2011). Cependant, la VIT, qui est représentée par la variabilité générale des traits exprimés par les individus au sein d'une espèce, est à la fois cible de sélection naturelle (principal moteur des interactions biotiques) et composante fondamentale de la diversité. Ainsi, la même quantité de VIT peut résulter de différentes combinaisons de variabilité génétique et environnementale.

En fait, une espèce est une collection d'individus avec une variété de traits et c'est au niveau des individus que les interactions écologiques se produisent et que les premières adaptations sélectives ont lieu. De plus, une communauté naturelle est composée d'individus à différents phénotypes qui exhibent des variations dans leurs paramètres démographiques et dans leurs interactions intra- et inter-spécifiques. La VIT a deux effets majeurs au niveau des communautés. D'abord, la VIT permet d'avoir des cycles dans lesquels la distribution de taille des populations varie au travers du temps. Et la VIT apporte, pour une même espèce ayant des individus de différentes tailles, un équilibre des communautés, puisque l'alimentation, la croissance et la mortalité sont spécifiques à certaines tailles. Prendre compte de la VIT peut renforcer les approches basées sur les traits (Bolnick *et al.*, 2011). Tel que mentionné précédemment, il est de plus en plus reconnu que l'incorporation de la VIT peut améliorer notre capacité à expliquer la structure des communautés et le fonctionnement des écosystèmes. Les recherches jusqu'à aujourd'hui ont porté sur les implications éco-évolutives de la VIT dans une ou certaines espèces clés ou dominantes. Pour examiner le rôle de la VIT dans la structure des communautés et dans le fonctionnement des écosystèmes, il est nécessaire de la considérer d'une communauté entière plutôt que la VIT de quelques espèces sélectionnées uniquement.

Ainsi, non seulement de futures études pourraient travailler sur les mécanismes évolutionnaires sous-tendant les différences entre populations, mais aussi étudier les conséquences écologiques de la variation de traits intra-spécifiques comme réponses fonctionnelles des communautés au sein d'une métacommunauté.

APPENDICE A

SCHÉMA DU MODÈLE FACTORIEL DE L'EXPÉRIENCE

ZS \ WT	Clear water treatment			Brown water treatment		
DOC-poor lake	L1	L1	L1	L1	L1	L1
	L2	L2	L2	L2	L2	L2
	L3	L3	L3	L3	L3	L3
DOC-rich lake	L4	L4	L4	L4	L4	L4
	L5	L5	L5	L5	L5	L5
	L6	L6	L6	L6	L6	L6

Fig. 1.7 Factorial design of the 2 x 2 x 3 common garden field transplant experiment (36 enclosures in total; n=3) with two main effects: 1) WT = water treatment (DOC decrease (clear water treatment) or increase (brown water treatment) relative to zooplankton source conditions; 2) ZS = zooplankton source (three DOC-poor lakes (< 3.5 mg·L⁻¹) versus three DOC-rich lakes (> 8.5 mg·L⁻¹)). The model has one random effect: LS = lake source, which is represented by the circles that indicate lake 1, lake 2 etc: L1, L2, L3, L4, L5 and L6 for which there are 3 replicates each.

APPENDICE B

RÉSULTATS DES ANALYSES DE VARIANCE À MESURES RÉPÉTÉES (RM-ANOVA) SUR LES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES ET
LES RESSOURCES DE BASE DE L'EXPÉRIENCE

Table 1.5 Repeated-measures analysis of variance (RM-ANOVA) by simple and interaction effects of time interactions for physico-chemical (dissolved organic carbon (DOC), colored dissolved organic matter (CDOM), total phosphorus (TP), dissolved oxygen (DO), pH, conductivity), and basal resources (total chlorophyll *a* (Chl *a*) and bacterial production (BP)).

	Physico-chemical						Basal resources	
	DOC	CDOM	TP	DO	pH	Conductivity	Chl <i>a</i>	BP
df effect	1	1	1	1	1	1	1	1
df error	8	8	8	8	8	8	8	8
water Treatment (WT)								
<i>F</i>	854.85	942.15	10.85	19.09	—	531.21	—	—
<i>P</i>	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	—	<0.01	—	—
Zooplankton Source (ZS)								
<i>F</i>	—	—	14.76	—	—	—	—	—
<i>P</i>	—	—	<0.01	—	—	—	—	—
WT x ZS								
<i>F</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
df effect	1.26	1.83	1.39	2.28	1.32	1.86	1.26	2.45
df error	10.12	14.63	11.08	18.24	10.54	14.92	10.08	19.56
Time								
<i>F</i>	—	10.56	11.05	112.56	—	1455.67	—	7.74
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01	<0.01	—	<0.01	—	<0.01
Time x WT								
<i>F</i>	6.73	38.56	—	—	—	91.02	—	10.03
<i>P</i>	0.02	<0.01	—	—	—	<0.01	—	<0.01
Time x ZS								
<i>F</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
Time x ZS x WT								
<i>F</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P</i>	—	—	—	—	—	—	—	—

Note: Bolded *P* values are significant at $P < 0.05$ and non-significant results are indicated by "—". *P* values and degrees of freedom (df) for time interactions (multivariate approach) were corrected with the Greenhouse-Geisser adjustment (G-G) for any departures from sphericity.

APPENDICE C

RÉSULTATS DE L'ANALYSE DE COMPOSANTES PRINCIPALES (PCA) DE LA COMPOSITION EN
BIOVOLUME DU PHYTOPLANKTON ISSU DE L'EXPÉRIENCE

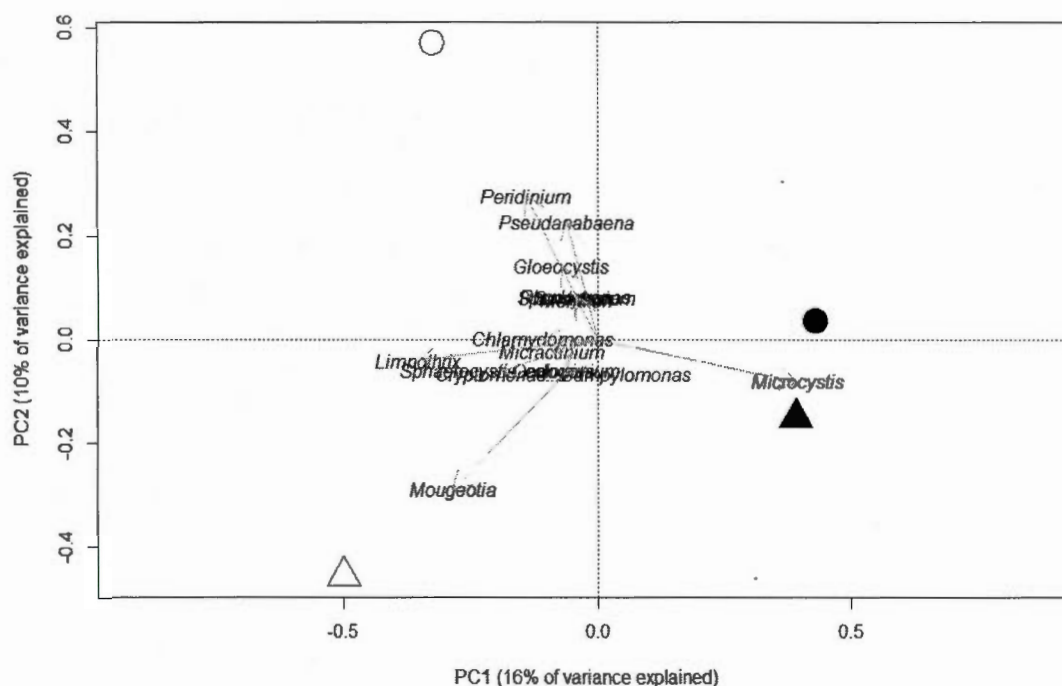


Fig. 1.8 PCA of phytoplankton genus biovolume composition in experimental enclosures at the week four of the experiment. Open symbols represent clear water treatment and solid symbols represent the brown water treatments. Triangles represent the treatment with DOC-rich lake zooplankton source and circles represent the treatment with DOC-poor lake zooplankton source.

Associated methods:

At mid experiment time (week 4), one replicate of each water treatment x zooplankton source combination was randomly selected for characterization of phytoplankton community composition in the mesocosm enclosures. The phytoplankton community was sampled with a vertical integrator tube that sampled from the 5-m water column present in the mesocosms. A subsample of this integrated water was fixed using Lugol (solution of elemental iodine and potassium iodide in

water) for later analysis in the laboratory. Identification was performed to the genus level using an inverted microscope (Olympus 1X71) and following standard protocol (U.S. EPA, 2012). A minimum of 400 natural algal units were counted and identified per sample. Phytoplankton linear dimensions were assessed using a digital camera (Olympus U-T MAD) mounted on the microscope and converted to biovolume using method of Hillebrand et al. (1999).

Principal component analysis (PCA) was performed on Hellinger-transformed (Legendre & Gallagher 2001) phytoplankton species biovolume (mg m^{-3}) data table (R studio version 0.97.248, 2014) to detect species composition differences between mesocosms analysed. Biovolumes were Hellinger-transformed as well as centered and standardized to adjust for differences in measurement units among environmental variables. Only the fifteen species most important in the species composition of the PCA are shown in biplots to simplify its reading, but all species were included in the PCA.

Associated references

Hillebrand, H., Dürselen C.-D., Kirshtel D., Pollinger U. & Zohary T. (1999)

Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae, *Journal of Phycology*, **35**, 403-424.

Legendre, P. & E.D. Gallagher (2001) Ecologically meaningful transformations for ordinations of species data. *Oecologia* **129**, 271-280.

U.S. EPA. 2012. 2012 National Lakes Assessment. Laboratory Operations Manual.

EPA-841-B-11-004. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

BIBLIOGRAPHIE

- Albert, C., F. Grassein, Schurr, F. M., G. Vieilledent and C. Violle. 2011. When and how should intraspecific variability be considered in trait-based plant ecology? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, vol. 13, p. 214-225.
- Andersson, A., I. Jurgensone, O. F. Rowe, P. Simonelli, A. Bignert, E. Lundberg and J. Karlsson. 2013. Can Humic Water Discharge Counteract Eutrophication in Coastal Waters? *PLoS ONE*, vol. 8, no 4.
- Ask, J., J. Karlsson and M. Jansson. 2012. Net ecosystem production in clear-water and brown-water lakes. *Global Biogeochemical Cycles*, vol. 26.
- Beisner, B. E., P. R. Peres, E. S. Lindstrom, A. Barnett and M. L. Longhi. 2006. The role of environmental and spatial processes in structuring lake communities from bacteria to fish. *Ecology*, vol. 87, no 12, p. 2985-2991.
- Berggren, M., H. Laudon, M. Haei, L. Strom and M. Jansson. 2010a. Efficient aquatic bacterial metabolism of dissolved low-molecular-weight compounds from terrestrial sources. *Isme Journal*, vol. 4, no 3, p. 408-416.
- Berggren, M., L. Strom, H. Laudon, J. Karlsson, A. Jonsson, R. Giesler, A. K. Bergstrom and M. Jansson. 2010b. Lake secondary production fueled by rapid transfer of low molecular weight organic carbon from terrestrial sources to aquatic consumers. *Ecology Letters*, vol. 13, no 7, p. 870-880.
- Bergstrom, A. K., and M. Jansson. 2000. Bacterioplankton production in humic Lake Ortrasket in relation to input of bacterial cells and input of allochthonous organic carbon. *Microbial Ecology*, vol. 39, no 2, p. 101-115.
- Bilton, D. T., J. R. Freeland and B. Okamura. 2001. Dispersal in freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, vol. 32, p. 159-181.
- Bolnick, D. L., P. Amarasekare, M. S. Araujo, Bürger R., Levine J. M., M. Novak, V. H. W. Rudolf, S. J. Schreiber, M. C. Urban and D. A. Vasseur. 2011. Why intraspecific traitvariation matters in community ecology. *Trends in ecology & evolution*, vol. 26, no 4, p. 183-192.

- Brett, M. T., M. J. Kainz, S. J. Taipale and H. Seshan. 2009. Phytoplankton, not allochthonous carbon, sustains herbivorous zooplankton production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 106, no 50, p. 21197-21201.
- Brett, M. T., and D. C. Muller-Navarra. 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic food web processes. *Freshwater Biology*, vol. 38, no 3, p. 483-499.
- Carpenter, S. R., J. J. Cole, M. L. Pace, M. Van de Bogert, D. L. Bade, D. Bastviken, C. M. Gille, J. R. Hodgson, J. F. Kitchell and E. S. Kritzberg. 2005. Ecosystem subsidies: Terrestrial support of aquatic food webs from C-13 addition to contrasting lakes. *Ecology*, vol. 86, no 10, p. 2737-2750.
- Chapin, F. S., B. H. Walker, R. J. Hobbs, D. U. Hooper, J. H. Lawton, O. E. Sala and D. Tilman. 1997. Biotic control over the functioning of ecosystems. *Science*, vol. 277, no 5325, p. 500-504.
- Chesson, P., and N. Huntly. 1997. The roles of harsh and fluctuating conditions in the dynamics of ecological communities. *American Naturalist*, vol. 150, no 5, p. 519-553.
- Clements, F.E. 1936. Nature and structure of the climax. *Journal of Ecology*, vol. 24, p. 252-284.
- Cole, J. J., S. R. Carpenter, J. Kitchell, M. L. Pace, C. T. Solomon and B. Weidel. 2011. Strong evidence for terrestrial support of zooplankton in small lakes based on stable isotopes of carbon, nitrogen, and hydrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 108, no 5, p. 1975-1980.
- Culver, D. A., M. M. Boucherle, D. J. Bean and J. W. Fletcher. 1985. Biomass of freshwater crustacean zooplankton from length - weight regressions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 42, p. 1380-1390.
- Cuthbert, I. D., and P. del Giorgio. 1992. Toward a standard method of measuring color in fresh-water. *Limnology and Oceanography*, vol. 37, no 6, p. 1319-1326.

- Davis, M. A., J. P. Grime and K. Thompson. 2000. Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility. *Journal of Ecology*, vol. 88, no 3, p. 528-534.
- De Melo, R. , and P.D.N. Hebert. 1994. A taxonomic reevaluation of North American Bosminidae. *CAN. J. ZOOL.*, vol. 72, p. 1808-1825.
- Derry, A., S. E. Arnott, J. A. Shead, P. D. N. Hebert and P. T. Boag. 2009. Ecological linkages between community and genetic diversity in zooplankton among boreal shield lakes. *Ecology*, vol. 90, no 8, p. 2275-2286.
- DeSellas, A. M., A. M. Paterson, J. N. Sweetman and J. P. Smol. 2008. Cladocera assemblages from the surface sediments of south-central Ontario (Canada) lakes and their relationships to measured environmental variables. *Hydrobiologia*, vol. 600, p. 105-119.
- Duffy, M. A., L. J. Perry, C. M. Kearns, L. J. Weider and N. G. Hairston. 2000. Paleogenetic evidence for a past invasion of Onondaga Lake, New York, by exotic *Daphnia curvirostris* using mtDNA from dormant eggs. *Limnology and Oceanography*, vol. 45, no 6, p. 1409-1414.
- Faithfull, C., M. Huss, T. Vrede, J. Karlsson and A. K. Bergstrom. 2012. Transfer of bacterial production based on labile carbon to higher trophic levels in an oligotrophic pelagic system. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 69, no 1, p. 85-93.
- Faithfull, C. L., M. Huss, T. Vrede and A. K. Bergström. 2011. Bottom-up carbon subsidies and top-down predation pressure interact to affect aquatic food web structure. *Oikos*, vol. 120, no 2, p. 311-320.
- Fee, E. J., R. E. Hecky, S. E. M. Kasian and D. R. Cruikshank. 1996. Effects of lake size, water clarity, and climatic variability on mixing depths in Canadian Shield lakes. *Limnology and Oceanography*, vol. 41, no 5, p. 912-920.
- Folke, C., C. S. Holling and C. Perrings. 1996. Biological diversity, ecosystems, and the human scale. *Ecological Applications*, vol. 6, no 4, p. 1018-1024.
- Fuschino, Jenny R., Irina A. Guschina, Gary Dobson, Norman D. Yan, John L. Harwood and Michael T. Arts. 2011. Rising Water Temperatures Alter Lipid Dynamics and

Reduce N-3 Essential Fatty Acid Concentrations in *Scenedesmus Obliquus* (Chlorophyta)1. *Journal of Phycology*, vol. 47, no 4, p. 763-774.

Girard, R. , and R.A. Reid (1990). Dorset Reasearch Centre study lakes: sampling methodology (1986-1989) and lake morphometry Toronto, Ont., Data report, Ontario Ministry of the Environment.

Gleason, H.A. 1926. The individual concept of the plant association. *Bull. Torrey Botanical Club*, vol. 53, p. 7-26.

Gonzalez, A., and M. Loreau. 2009. «The Causes and Consequences of Compensatory Dynamics in Ecological Communities». In *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* Chap. in *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, Vol 43*, p. 393-414. Palo Alto: Annual Reviews.

Gray, D. K., and S. E. Arnott. 2011. Does dispersal limitation impact the recovery of zooplankton communities damaged by a regional stressor? *Ecological Applications*, vol. 21, no 4, p. 1241-1256.

Griesbach, S.J., and R.H. Peters. 1991. The effects of analytical variations on estimates of phosphorus concentration in surface waters. *Lake Reservoir Manage*, vol. 7, p. 97-106.

Hanski, I. , and O. E. Gaggiotti. 2004. Ecology, genetics, and evolution of metapopulations. Amsterdam: Elsevier Academic Press p.

Hansson, L. A., and S. Hylander. 2009. Effects of ultraviolet radiation on pigmentation, photoenzymatic repair, behavior, and community ecology of zooplankton. *Photochemical & Photobiological Sciences*, vol. 8, no 9, p. 1266-1275.

Hansson, L. A., S. Hylander and R. Sommaruga. 2007. Escape from UV threats in zooplankton: A cocktail of behavior and protective pigmentation. *Ecology*, vol. 88, no 8, p. 1932-1939.

- Hessen, D. O., P. Blomqvist, G. Dahl-Hansen, S. Drakare and E. S. Lindstrom. 2004. Production and food web interactions of Arctic freshwater plankton and responses to increased DOC. *Archiv Fur Hydrobiologie*, vol. 159, no 3, p. 289-307.
- Hobbie, J.E., M. Bahr, N. Bettez and Rublee P.A. 1999. Microbial food webs in oligotrophic Arctic Lakes. *Polar Microbial Ecology*.
- Holyoak, M., M.A. Leibold and R.D. Holt. 2005. Metacommunities: spatial dynamics and ecological communities. Chicago: University of Chicago Press p.
- Jansson, M., A. K. Bergstrom, P. Blomqvist and S. Drakare. 2000. Allochthonous organic carbon and phytoplankton/bacterioplankton production relationships in lakes. *Ecology*, vol. 81, no 11, p. 3250-3255.
- Jansson, M., L. Persson, A. M. De Roos, R. I. Jones and L. J. Tranvik. 2007. Terrestrial carbon and intraspecific size-variation shape lake ecosystems. *Trends in ecology & evolution*, vol. 22, no 6, p. 316-322.
- Jones, S.E., C. T. Solomon and B. Weidel. 2012. Subsidy or subtraction: how do terrestrial inputs influence consumer production in lakes? *Freshwater Reviews*, vol. 5, p. 37-49.
- Kankaala, P., S. Peura, H. Nykanen, E. Sonninen, S. Taipale, M. Tirola and R. I. Jones. 2010. Impacts of added dissolved organic carbon on boreal freshwater pelagic metabolism and food webs in mesocosm experiments. *Fundamental and Applied Limnology*, vol. 177, no 3, p. 161-176.
- Karatayev, A. Y., L. E. Burlakova and S. I. Dodson. 2008. Community analysis of Belarusian lakes: correlations of species diversity with hydrochemistry. *Hydrobiologia*, vol. 605, p. 99-112.
- Karlsson, J., D. Lymer, K. Vrede and M. Jansson. 2007. Differences in efficiency of carbon transfer from dissolved organic carbon to two zooplankton groups: an enclosure experiment in an oligotrophic lake. *Aquatic Sciences*, vol. 69, no 1, p. 108-114.
- Kawecki, T. J., and D. Ebert. 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, vol. 7, no 12, p. 1225-1241.

- Kirchman, D.L. 1993. «Leucine incorporation as a measure of biomass production by heterotrophic bacteria». In *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*, P.F. Kemp, Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole, J.J., p. 509-512. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Korosi, J. B., A. M. Paterson, A. M. Desellas and J. P. Smol. 2008. Linking mean body size of pelagic Cladocera to environmental variables in Precambrian Shield lakes: A paleolimnological approach. *Journal of Limnology*, vol. 67, no 1, p. 22-34.
- Korosi, J. B., and J. P. Smol. 2011. Distribution of cladoceran assemblages across environmental gradients in Nova Scotia (Canada) lakes. *Hydrobiologia*, vol. 663, no 1, p. 83-99.
- Lapierre, J.-F., F. Guillemette, M. Berggren and P. A. Del Giorgio. 2013. Increases in terrestrially derived carbon stimulate organic carbon processing and CO₂ emissions in boreal aquatic ecosystems. *Nature communication*, vol. 4, no 2972.
- Larsen, S., T. O. M. Andersen and D. O. Hessen. 2011. Climate change predicted to cause severe increase of organic carbon in lakes. *Global Change Biology*, vol. 17, no 2, p. 1186-1192.
- Leech, D. M., and C. E. Williamson. 2000. Is tolerance to UV radiation in zooplankton related to body size, taxon, or lake transparency? *Ecological Applications*, vol. 10, no 5, p. 1530-1540.
- Lefébure, R., R. Degerman, A. Andersson, S. Larsson, L. O. Eriksson, U. Bamstedt and P. Bystrom. 2013. Impacts of elevated terrestrial nutrient loads and temperature on pelagic food-web efficiency and fish production. *Global Change Biology*, vol. 19, no 5, p. 1358-1372.
- Leibold, M. A., M. Holyoak, N. Mouquet, P. Amarasekare, J. M. Chase, M. F. Hoopes, R. D. Holt, J. B. Shurin, R. Law, D. Tilman, M. Loreau and A. Gonzalez. 2004. The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology Letters*, vol. 7, no 7, p. 601-613.
- Leibold, M. A., and J. Norberg. 2004. Biodiversity in metacommunities: Plankton as complex adaptive systems? *Limnology and Oceanography*, vol. 49, no 4, p. 1278-1289.

- Lennon, J. T., and K. L. Cottingham. 2008. Microbial productivity in variable resource environments. *Ecology*, vol. 89, no 4, p. 1001-1014.
- Lennon, J. T., and L. E. Pfaff. 2005. Source and supply of terrestrial organic matter affects aquatic microbial metabolism. *Aquatic Microbial Ecology*, vol. 39, no 2, p. 107-119.
- Lennon, J.T., S.K. Hamilton, M.E. Muscarella, A.S. Grandy, K. Wickings and S.E. Jones. 2013. A source of terrestrial organic carbon to investigate the browning of aquatic ecosystems. *PLoS ONE*, vol. 8, no 10, p. 1-13.
- Logue, J. B., N. Mouquet, H. Peter and H. Hillebrand. 2011. Empirical approaches to metacommunities: a review and comparison with theory. *Trends in ecology & evolution*, vol. 26, no 9, p. 482-491.
- Loreau, M., N. Mouquet and A. Gonzalez. 2003. Biodiversity as spatial insurance in heterogeneous landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 100, no 22, p. 12765-12770.
- MacArthur, R.H., and E.O. Wilson. 1967. The theory of Island Biogeography: Princeton University Press p.
- Masson, S. 2004. Spatial heterogeneity of zooplankton biomass and size structure in southern Quebec lakes: variation among lakes and within lake among epi-, meta- and hypolimnion strata. *Journal of Plankton Research*, vol. 26, no 12, p. 1441-1458.
- McCauley, E. . 1984. «The estimation of the abundance and biomass of zooplankton in samples». In *A manual on methods for the assesment of secondary production in freshwaters*, 2nd, F.H and Downing J.A. Rigler. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publication.
- Monteith, D. T., J. L. Stoddard, C. D. Evans, H. A. de Wit, M. Forsius, T. Høgåsen, A. Wilander, B. L. Skjelkvåle, D. S. Jeffries, J. Vuorenmaa, B. Keller, J. Kopáček and J. Vesely. 2007. Dissolved organic carbon trends resulting from changes in atmospheric deposition chemistry. *Nature*, vol. 450, no 7169, p. 537-540.
- Nicolle, A., P. Hallgren, J. Von Einem, E. S. Kritzberg, W. Granéli, A. Persson, C. Bronmark and L.-A. Hansson. 2012. Predicted warming and browning affect timing and

magnitude of plankton phenological events in lakes: a mesocosm study. *Freshwater Biology*, p. doi:10.1111/j.1365-2427.2012.02733.x.

Pace, M. L., G. B. McManus and S. E. G. Findlay. 1990. Planktonic community structure determines the fate of bacterial production in a temperate lake *Limnology and Oceanography*, vol. 35, no 4, p. 795-808.

Patoine, A., B. Pinel-Alloul and E. E. Prepas. 2002. Effects of catchment perturbations by logging and wildfires on zooplankton species richness and composition in Boreal Shield lakes. *Freshwater Biology*, vol. 47, no 10, p. 1996-2014.

Peters, R.H. 1983. The ecological implications of body size New York: Cambridge University press, 329 p.

Pinel-Alloul, B., A. Andre, P. Legendre, J. A. Cardille, K. Patalas and A. Salki. 2013. Large-scale geographic patterns of diversity and community structure of pelagic crustacean zooplankton in Canadian lakes. *Global Ecology and Biogeography*, vol. 22, no 7, p. 784-795.

Pinel-Alloul, B., E. Prepas, D. Planas, R. Steedman and T. Charette. 2002. Watershed impacts of logging and wildfire: Case studies in Canada. *Lake and Reservoir Management*, vol. 18, no 4, p. 307-318.

Porcal, P., J. F. Koprivnjak, L. A. Molot and P. J. Dillon. 2009. Humic substances-part 7: the biogeochemistry of dissolved organic carbon and its interactions with climate change. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 16, no 6, p. 714-726.

Quinn, G.P. , and M.J. Keough. 2002. Experimental Design and Data Analysis for Biologists. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 537 p.

Rautio, M., H. Mariash and L. Forsstrom. 2011. Seasonal shifts between autochthonous and allochthonous carbon contributions to zooplankton diets in a subarctic lake. *Limnology and Oceanography*, vol. 56, no 4, p. 1513-1524.

Rautio, M., and W. F. Vincent. 2006. Benthic and pelagic food resources for zooplankton in shallow high-latitude lakes and ponds. *Freshwater Biology*, vol. 51, no 6, p. 1038-1052.

- Riemann, B. 1985. Potential importance of fish predation and zooplankton grazing on natural populations of freshwater bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 50, no 2, p. 187-193.
- Roff, D. A. 2002. Life history evolution Sunderland, Massachusetts.: Sinauer Associates, Inc. p.
- Sartory, D.P., and J.U. Grobelaar. 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis *Hydrobiologia*, vol. 114, p. 177-187.
- Schindler, D.W., S.E. Bayley and B.R. Parker. 1996. The effects of climatic warming on the properties of boreal lakes and streams at the Experimental Lakes Area, northwestern Ontario.
- Shurin, J. B., K. Cottenie and H. Hillebrand. 2009. Spatial autocorrelation and dispersal limitation in freshwater organisms. *Oecologia*, vol. 159, no 1, p. 151-159.
- Shurin, J. B., J. E. Havel, M. A. Leibold and B. Pinel-Alloul. 2000. Local and regional zooplankton species richness: A scale-independent test for saturation. *Ecology*, vol. 81, no 11, p. 3062-3073.
- Shurin, J. B., M. Winder, R. Adrian, W. Keller, B. Matthews, A. M. Paterson, M. J. Paterson, B. Pinel-Alloul, J. A. Rusak and N. D. Yan. 2010. Environmental stability and lake zooplankton diversity - contrasting effects of chemical and thermal variability. *Ecology Letters*, vol. 13, no 4, p. 453-463.
- Smith, D., and F. Azam. 1992. A simple and economical way for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using 3H-leucine *Mar. Microb. Food Webs*, vol. 6, p. 107-114.
- Smith, K.E., and C.H. Fernando. 1978. A guide to the freshwater calanoid and cyclopoid Copepoda Crustacea of Ontario *University of Waterloo Biology series*, vol. 18, p. 1-76.
- Staddon, P., Z. Lindo, P. D. Crittenden, F. Gilbert and A. Gonzalez. 2010. Connectivity, non-random extinction and ecosystem function in experimental metacommunities. *Ecology Letters*, vol. 13, no 5, p. 543-552.

- Steinberg, C. E. W., S. Kamara, V. Y. Prokhotskaya, L. Manusadzianas, T. A. Karasyova, M. A. Timofeyev, Z. Jie, A. Paul, T. Meinelt, V. F. Farjalla, A. Y. O. Matsuo, B. K. Burnison and R. Menzel. 2006. Dissolved humic substances - ecological driving forces from the individual to the ecosystem level? *Freshwater Biology*, vol. 51, no 7, p. 1189-1210.
- Strecker, A. L., and S. E. Arnott. 2010. Complex interactions between regional dispersal of native taxa and an invasive species. *Ecology*, vol. 91, no 4, p. 1035-1047.
- Strecker, A. L., R. Milne and S. E. Arnott. 2008. Dispersal limitation and climate-related environmental gradients structure microcrustacean composition in freshwater lakes, Ellesmere Island, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 65, no 9, p. 1905-1918.
- Suhett, A. L., C. E. W. Steinberg, J. M. Santangelo, R. L. Bozelli and V. F. Farjalla. 2011. Natural dissolved humic substances increase the lifespan and promote transgenerational resistance to salt stress in the cladoceran *Moina macrocopa*. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 18, no 6, p. 1004-1014.
- Symons, C. C., and S. E. Arnott. 2013. Regional zooplankton dispersal provides spatial insurance for ecosystem function. *Global Change Biology*, vol. 19, no 5, p. 1610-1619.
- Tartarotti, B., N. Saul, S. Chakrabarti, F. Trattner, C. E. W. Steinberg and R. Sommaruga. 2013. UV-induced DNA damage in *Cyclops abyssorum taticus* populations from clear and turbid alpine lakes. *Journal of Plankton Research*, vol. 0, p. 1-10.
- Thompson, P. L., and J. B. Shurin. 2012. Regional zooplankton biodiversity provides limited buffering of pond ecosystems against climate change. *Journal of Animal Ecology*, vol. 81, no 1, p. 251-259.
- Thorp, J.H., and A.P. Covich. 2010. Ecology and classification of North American freshwater invertebrates California: Academic press p.
- Urban, M. C. 2011. The evolution of species interactions across natural landscapes. *Ecology Letters*, vol. 14, no 7, p. 723-732.

- Urban, M. C., M. A. Leibold, P. Amarasekare, L. De Meester, R. Gomulkiewicz, M. E. Hochberg, C. A. Klausmeier, N. Loeuille, C. de Mazancourt, J. Norberg, J. H. Pantel, S. Y. Strauss, M. Vellend and M. J. Wade. 2008. The evolutionary ecology of metacommunities. *Trends in ecology & evolution*, vol. 23, no 6, p. 311-317.
- Violle, C., M. L. Navas, D. Vile, E. Kazakou, C. Fortunel, I. Hummel and E. Garnier. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos*, vol. 116, no 5, p. 882-892.
- Wetzel, R.G. 2001. *Limnology Lake and River Ecosystems*, Third. California: Academic Press, 1006 p.
- Wilson, D. S. 1992. Complex interactions in metacommunities, with implications for biodiversity and higher levels of selection *Ecology*, vol. 73, no 6, p. 1984-2000.
- Winegardner, A. K., B. K. Jones, I. S. Y. Ng, T. Siqueira and K. Cottenie. 2012. The terminology of metacommunity ecology. *Trends in ecology & evolution*, vol. 27, no 5, p. 253-254.
- Winterman, J.F.G.M, and A. de Mots. 1965. Spectrophotometric determination of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol *Biophys. Acta*, vol. 109, p. 448-453.
- Wissel, B. , and W. J. Boeing. 2003. Effects of water color on predation regimes and zooplankton assemblages in freshwater lakes. *Limnol. Oceanogr.*, vol. 48, no (5), p. 1965-1976.
- Wissel, B., and C. W. Ramacharan. 2003. Plasticity of vertical distribution of crustacean zooplankton in lakes with varying levels of water colour. *Journal of Plankton Research*, vol. 25, no 9, p. 1047-1057.
- Witty, L.M. 2004. *Practical Guide to identifying Freshwater Crustacean zooplankton* 2nd. Sudbury, Ontario: Cooperative freshwater ecology unit p.
- Yachi, S., and M. Loreau. 1999. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 96, no 4, p. 1463-1468.

Zhang, J., J. Hudson, R. Neal, J. Sereda, T. Clair, M. Turner, D. Jeffries, P. Dillon, L. Molot, K. Somers and R. Hesslein. 2010. Long-term patterns of dissolved organic carbon in lakes across eastern Canada: Evidence of a pronounced climate effect. *Limnology and Oceanography*, vol. 55, no 1, p. 30-42.

Zollner, E., H. G. Hoppe, U. Sommer and K. Jurgens. 2009. Effect of zooplankton-mediated trophic cascades on marine microbial food web components (bacteria, nanoflagellates, ciliates). *Limnology and Oceanography*, vol. 54, no 1, p. 262