SLU ID: SLU.aqua.2020.5.2-336

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Institutionen för akvatiska resurser

2021-02-09

Genetisk analys av öring från Älgån

Stefan Palm

Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för akvatiska resurser, Sötvattenslaboratoriet
Stångholmsvägen 2, 178 93 Drottningholm

stefan.palm@slu.se, 010-478 42 49

Bakgrund

Älgån är ett mindre vattendrag (total medelvattenföring 0,65 m^3/s) i Värmlands län. Ån avvattnar Älgsjön för att efter 4 km mynna i den större Glafsfjorden (figur 1). Älgån utgör länets i särklass flodpärlmusseltätaste vattendrag. Ån hyser även flodkräfta samt en livskraftig stam av sjövandrande och stationär öring. De höga naturvärdena har medfört att Älgån är utsedd som Natura 2000-område samt planeras bli naturreservat. För att åstadkomma naturligare flödesförhållanden och ökad konnektivitet i vattensystemet finns planer på utrivning av en reglerbar damm nära Älgsjöns utlopp (figur 1). Dammen har sedan slutet av 1800-talet utgjort ett definitivt vandringshinder för fisk. Det finns även planer på biotopvård genom återförande av tidigare upprensad sten samt tillförsel av död ved (Länsstyrelsen 2017).

Under Länsstyrelsen i Värmlands fiskräkning i Älgån med ett videobaserat system hösten 2019 observerades en hög andel fettfeneklippta odlade öringar (figur 2). Under perioden fiskräkningen pågick (17 september - 7 november) bestod enligt ännu preliminära uppgifter nära hälften av den lekvandrade öringen (uppemot 10 av totalt ca 20 fiskar) av fenklippta individer i storleksintervallet 3–5 kg (figur 3). Vid åtminstone ett tillfälle syntes också ett tydligt ”uppvaktningsbeteende” mellan oklippt och klippt öring inuti videotunneln följt av tillfälliga grumlingar av det annars klara vattnet, vilket indikerar att lek skedde alldeles uppströms videotunneln (Pär Gustafsson, Lst Värmland, pers. komm.).

Observationen av fenklippt öring var överraskande då tillståndspliktiga utsättningar varken skett i Älgåns vattensystem eller i Glafsfjorden. Fisken kan dock härröra från en tidigare utsättning (2015) av 1 000 treåriga Gullspångsöringar i Stora Lesjön, vilken via ett kort vattendrag rinner ut i

Glafsfjorden ca 20 km söder om Älgån. Enligt muntliga uppgifter från fiskevårdsområdet gav denna utsättning inte avsedd effekt på det lokala fisket i Stora Lesjön (Pär Gustafsson, Länsstyrelsen, pers. komm.). Storleken hos den observerade fenklippta öringen i Älgån, vilken överensstämmer med en fångad Gullspångsöring i Stora Lesjön sommaren 2019, indikerar att den fenklippta fisken härrör just från denna tidigare utsättning i Stora Lesjön. Det faktum att könsmogen öring ofta reproducerar sig upprepat under flera års tid innebär vidare att odlad öring sannolikt vandrat upp i Älgån för lek även innan 2019.

Att odlad fisk leker i naturen och ”sprider gener” till lokalt anpassade vilda populationer kan resultera i sänkt överlevnad och minskad reproduktiv framgång hos kommande generationer. Särskilt problematiskt anses detta vara om/när den odlade fisken har ett avvikande geografiskt och genetiskt ursprung, vilket oftast är fallet. Innan beslut eventuellt fattas om en utrivning av dammen i Älgån vill länsstyrelsen undersöka i vilken grad odlad öring, av förmodad Gullspångsstam, har påverkat åns bestånd av öring genetiskt. Informationen bedöms viktig då en betydande genetisk påverkan kan innebära risk för negativa konsekvenser för de lokala bestånd som förekommer längre uppströms i vattensystemet, om öringen från Glafsfjorden och Älgån ges möjlighet att vandra uppströms till Älgsjön och dess tillrinningar (figur 1).

I denna rapport presenteras resultat från DNA-analyser av vildfödda öringungar insamlade 2020 i Älgån samt längre uppströms i samma vattensystem. Huvudsakligt syfte har varit att identifiera eventuella tecken på genetiskt avvikande individer och kvantifiera andelen gener härstammande från Gullspångsöring. Som jämförelsematerial har använts data från tidigare analyser av öringstammar från Vänernområdet vid SLU Aqua. Arbetet har skett på uppdrag av Länsstyrelsen i Värmlands län.

Material och metoder

Vävnadsprov (liten fenbit i sprit) insamlades av länsstyrelsen vid elfiske i oktober 2020. Totalt provtogs 128 öringungar (stirr) från fem lokaler i Älgån samt en i Mörtebäcken uppströms Älgsjön (figur 4, tabell 1). Efter provtagning återutsattes fisken levande. Fiskens storleksfördelning indikerade förekomst av både årsungar (0+) och äldre öring (>0+). Genomgående har individer kortare än 100 mm antagits vara årsungar (0+) medan längre individer bedömts vara 1+ eller äldre (figur 5). Samtliga laborativa analyser (DNA-extraktion, PCR, fragmentanalys) genomfördes vid Sötvattenslaboratoriet, Drottningholm, där öringen genotypbestämdes med avseende på 16 variabla DNA-markörer (s.k. mikrosatelliter) enligt tidigare utarbetade protokoll.

Trots ”slumpmässig” insamling i fält, så långt detta är möjligt, kan stickprov ibland domineras av enskilda familjegrupper. Detta kan i sin tur ge en icke-representativ bild av populationens genetiska sammansättning (Waples & Anderson 2017). Sannolika helsyskongrupper i totalmaterialet identifierades med programmet COLONY 2.0.6.3 (Jones & Wang 2010). Därefter reducerades antalet helsyskon till maximalt två (slumpvis valda) per identifierad helsyskongrupp (Östergren et al. 2020).

För skattningar av mängd genetisk variation inom stickprov (förväntad heterozygositet, antal anlagsvarianter) användes FSTAT (Goudet 1995). Samma program användes även för att kvantifiera genetiska skillnader mellan stickproven (parvisa F_{ST}-skattningar) samt avvikelser från s.k. Hardy-Weinberg-proportioner i form av över- respektive underskott av heterozygota genotyper (kvantifierade med F_{IS}).

För att grafiskt identifiera avvikande genotyper genomfördes en faktoriell korrespondensanalys med programmet GENETIX (Belkhir et al. 2004). Ett neighbor-joining dendrogram (”släktskapsträd”) baserat på parvisa genetiska avstånd (Cavalli-Sforza & Edwards 1967) konstruerades med PHYLIP (Felsenstein 2004). I dendrogrammet jämfördes öringen från Älgån-Mörtebäcken med tidigare analyserade stammar från Vänernområdet med avseende på 10 gemensamma mikrosatelliter. Utöver odlad och vildfödd Gullspångsöring samt Klarälvsöring (Palm et al. 2012) ingick även öring från Brunnshyttebäcken och Trösälven i Gullspångsälvens vattensystem (Palm & Prestegaard 2015; Palm & Dannewitz 2018) samt prov från Höljesforsarna och Kvarnån i Upperudsälven (Palm & Söderberg 2019).

Med STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000; Falush et al. 2003) skattades mängden genetiskt material från Gullspångsöring hos den vildfödda öringen från Älgån. I korthet undersöks med denna metod hur många ”genetiska kluster” (populationer) det analyserade materialet mest sannolikt omfattar. Det går även att beräkna hur stor andel av varje individs arvsmassa som härstammar från respektive identifierat kluster. Utöver de 128 individerna från Älgån-Mörtebäcken (analyserade med 16 mikrosatelliter) ingick 170 tidigare undersökta Gullspångsöringar (analyserade med 10 mikro-satelliter) som referensmaterial. Förutom genetiska data användes ingen annan information, som t.ex. fångstplats eller känd stamtillhörighet, vid analysen.

Resultat

Totalt identifierades 17 helsyskongrupper bestående av två till sju individer. Baserat på detta resultat exkluderades sammanlagt 27 öringar, slumpvis valda inom de 11 grupper som omfattade fler än två helsyskon, inför flera av de följande statistiska analyserna. Ursprungliga och reducerade individantal (per kombination av elfiskelokal och bedömd åldersklass) ges i tabell 1.

I de flesta fall härrörde samtliga fiskar inom samma helsyskongrupp från en gemensam elfiskelokal och bedömd åldersklass. I tre av helsyskongrupperna från Älgån förekom dock en enstaka individ från annan elfiskelokal (den mest närbelägna). I två grupper förekom dessutom individer av olika bedömd ålder; i båda dessa fall hade den avvikande individen en längd alldeles under det tillämpade (och delvis godtyckligt valda) gränsvärdet för årsungar av 100 mm, vilket indikerar att åldern kan vara felbedömd (dessa individer med längd <100 mm kan egentligen ha varit äldre än 0+).

Mängden genetisk variation var relativt normal, med tendens till något lägre skattningar för Mörtebäcken jämfört med Älgån (tabell 1). I fyra av de 12 analyserade grupperna (kombinationer av elfiskelokal och bedömd åldersklass) förekom statistiskt signifikanta överskott av heterozygota genotyper ($F_{IS} < 0$; tabell 1) vilket kan förväntas om antalet föräldrar till den analyserade fisken har varit särskilt lågt och/eller efter parning av genetiskt olika föräldrar.

Tabell 2 innehåller parvisa jämförelser mellan de 12 grupperna i form av F_{ST}-skattningar. De flesta (16 av 20) av jämförelserna mellan öring från Älgån och Mörtebäcken var statistiskt signifikanta med F_{ST}-skattningar som varierade mellan 0,18 och 0,36 (genomsnitt 0,24). Mellan proven från Älgån var de parvisa skattningarna klart lägre (genomsnitt 0,06). De få signifikanta skillnader som kunde konstateras mellan prov från olika delar av Älgån återspeglar sannolikt att olika grupper av (få) föräldrar producerat de jämförda grupperna av avkommor.

En tydlig genetisk skillnad mellan öring från Älgån och Mörtebäcken kunde även observeras även efter klusteranalys med GENETIX (figur 6), där individerna bildade två tydliga kluster. Ett mindre antal individer från Älgån (fyra fiskar från lokalen ”Ns kyrkan” längst nedströms) bildade en tredje grupp

vilken sannolikt är kopplad till lek av odlad Gullspångsöring (se nedan). Ett dendrogram (figur 7), där även Gullspångsöringar och andra populationer kring Vänern var inkluderade, visade på samma tydliga skillnad mellan öring från Älgån och Mörtebäcken. Dendrogrammet påvisade vidare en tydlig genetisk skillnad mellan öringen från Älgån, Mörtebäcken och Gullspångsälven (oavsett insamlingsår och odlat eller vildfött ursprung bland de senare).

Givet de klara genetiska skillnaderna mellan öring från Älgån och Mörtebäcken samt Gullspångsälven genomfördes analysen med STRUCTURE baserad på förekomst av tre genetiska kluster (K=3). Som nämnts ovan utgjorde endast genetiska data ingångsinformation vid analysen, vilket innebär att programmet ”blint” identifierade respektive klusters genetiska sammansättning som därefter använts för att beräkna respektive individs ursprung (d.v.s. andelen av dess arvsmassa som tillhör respektive av de tre klustren).

Resultat efter analysen med STRUCTURE återges i figur 8. Övre delfiguren illustrera samtliga ingående individer (en stapel per fisk), med en överlag god överensstämmelse mellan skattat genetiskt kluster och geografiskt ursprung. För en minoritet av individerna från Älgån fanns dock ett betydande inslag av genetiskt material från Gullspångsöring, vilket också framgår av den mellersta delfiguren där andelen ”G-gener” (med 95 % konfidensintervall) visas för individerna från Älgån och Mörtebäcken. Sammanlagt sex individer (inklusive de fyra avvikande i figur 6) hade en skattad andel gener från Gullspångsöring högre än 50 %. Noterbart var att dessa individer med ett högt inslag av Gullspångsgener uteslutande hade fångats på den allra nedersta elfiskelokalen (Ns kyrkan”) närmast Älgåns mynning, strax ovan platsen för kameraräkningen hösten 2019. Från denna lokal fanns både årsungar (0+) och äldre (>0+) öring där den ena eller båda föräldrarna tycks ha utgjorts av odlad Gullspångsöring. Som framgår av nedersta delfiguren (figur 8) var den genomsnittliga andelen ”gullspångsgener” på denna lokal ca 40 %, medan den var nära noll på övriga lokaler i Älgån (och som förväntat i Mörtebäcken, uppströms vandringshindret). Enligt skattningen med STRUCTURE var totala inslaget av gener från Gullspångsöring ca 7 % bland samtliga öringar från Älgån.

Diskussion

Resultaten från denna undersökning visar att den fenklippta odlade öring som observerades vid fiskräkningen 2019 har producerat avkomma i Älgån, samt att misstanken om att det handlar om Gullspångsöring utsatt i Stora Lesjön 2015 av allt att döma är korrekt. Förekomst av ”gullspångsgener” hos både årsungar (0+) och äldre stirr (>0+) tyder på att upprepad lek av odlad öring skett 2019 och 2018. Om lek skett även tidigare år är oklart då åldern bland den äldre stirren är osäker, men detta kan inte uteslutas.

Den totala andelen gener från odlad Gullspångsöringen bland vildfödd stirr i Älgån (ca 7 %) kan framstå som låg, givet att preliminära uppgifter tyder på att närmare hälften av den lekvandrande öringen som räknades hösten 2019 var fenklippt. Denna synbara diskrepans kan bero på att en stor andel av den (oklippta) öring som producerar avkomma i Älgån är strömstationär (ej räknad) och/eller att den odlade fisken uppvisat klart lägre grad av reproduktiv framgång, vilket resulterat i färre avkommor än förväntat givet den höga andelen fenklippta individer bland den räknade lekfisken.

För båda de undersökta åldersklasserna finns ett tydligt mönster där gener från den odlade Gullspångsöringen endast förekommer bland stirr från den mest nedströms belägna lokalerna närmast Älgåns utlopp. Detta resultat sammanfaller med observationen av förmodad lek bland fenklippt fisk i direkt anslutning till kameraräknaren, och indikerar att den odlade fisken inte spritt

sig längre uppströms för lek i Älgån. Detta kan i sin tur förklara den låga andelen avkommor med odlade föräldrar totalt sett. Ett annan möjlig förklaring, om än kanske mindre trolig, är att den odlade Gullspångsöringen lekt även längre uppströms i Älgån, men att dess avkomma därefter, beroende på medfött beteende eller konkurrens, vandrat nedströms till området närmast utloppet.

Insamling av vävnad från öring i Mörtebäcken skedde för att få tillgång till genetiska data för ett förmodat ursprungligt bestånd från samma vattensystem, som inte kan vara påverkat av den odlade Gullspångsöring som under senare år vandrat upp för lek från Glafsfjorden. Innan dammen vid Älgsjöns utlopp byggdes i samband med flottningsverksamhet under slutet av 1800-talet antas att öringen kunnat vandra fritt mellan Glafsfjorden och Älgsjön. Den genetiska skillnaden mellan öringen från Älgån och närliggande Mörtebäcken kan därför förefalla överraskande tydlig. En eventuell förklaring kan dock vara omfattande genetiska slumpmässiga förändringar via s.k. genetisk drift i populationer av begränsad storlek som varit reproduktivt isolerade under mer än 120 år. En annan möjlighet är att populationerna i Älgån och Mörtebäcken redan var helt eller delvis reproduktivt åtskilda innan den nuvarande dammen uppfördes. Genetisk påverkan via äldre odokumenterade utsättningar i Glafsfjorden eller dess tillrinningar (inkl. Älgsjön) är ett ytterligare alternativ som kan behöva utredas närmare.

Erkännanden

Tack till Linda Söderberg (SLU Aqua) för assistans med laborativa analyser samt kommentarer på en tidigare version av rapporten, samt till Pär Gustafsson (Lst Värmland) för kommentarer samt bakgrundsinformation och fotografier.

Referenser

Belkhir K, Borsa P, Goudet J, Bonhomme F (2004) GENETIX 4.05: logiciel sous Windows pour la génétique des populations. Laboratoire Génome et Population, CNRS-UPR, Université de Montpellier II, Montpellier, France.

Cavalli-Sforza LL, Edwards AWF (1967) Phylogenetic Analysis Models and Estimation Procedures. *American Journal of Human Genetics* 19:233-257.

Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure: Extensions to linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164:1567-1587.

Felsenstein J (2004) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.

Goudet J (1995) FSTAT (Version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86:485-486.

Jones O, Wang J (2010) COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources* 10:551-555.

Länsstyrelsen (2017) Bevarandeplan för Natura 2000-området SE0610159 Älgån-Mörtebäcken. Länsstyrelsen Värmland, 15 sid.

Palm S, Dannewitz J, Johansson D, Laursen F, Norrgård J, Prestegaard T, Sandström A (2012) Populationsgenetisk kartläggning av Vänerlax. *Aqua reports* 2012:4. 64 s.

Palm S, Prestegaard T (2015) Genetisk analys av öring från Brunnshyttebäcken. PM från Sveriges lantbruksuniversitet, 8 s.

Palm S, Dannewitz J (2018). Genetisk status och bevarandemål för lax och öring i Gullspångsälven. Biologisk rådgivning från SLU, 17 s.

Palm S, Söderberg L (2019) Genetisk analys av öring från Upperudsälvens avrinningsområde. PM från Sveriges lantbruksuniversitet, 7 s.

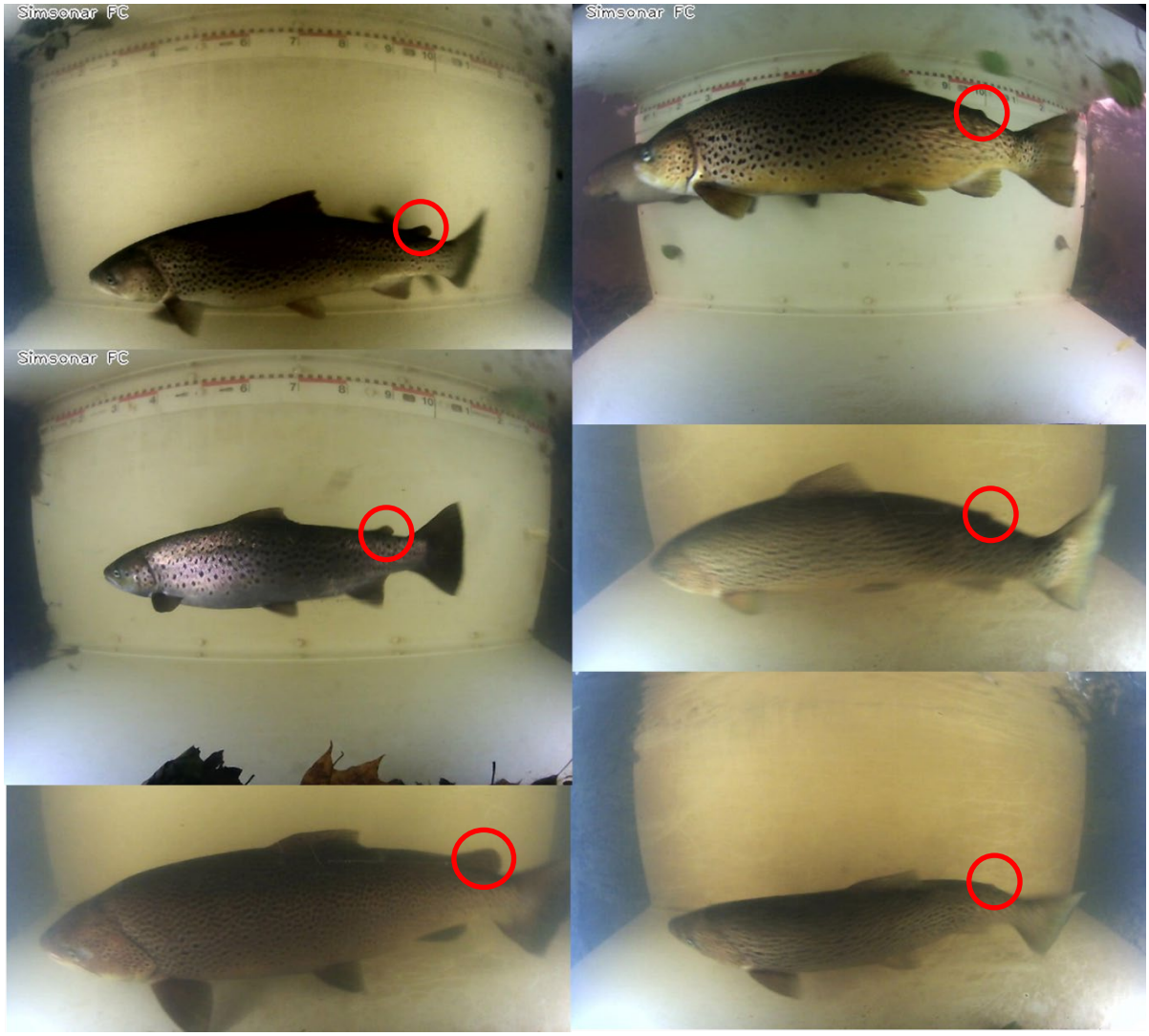
Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.

Waples RS, Anderson EC (2017) Purging putative siblings from population genetic data sets: a cautionary view. *Molecular Ecology* 26:1211-1224.

Östergren J, Palm S, Gilbey J, Dannewitz J (2020). Close relatives in population samples: evaluation of the consequences for Genetic Stock Identification. *Molecular Ecology Resources* 20:498–510.

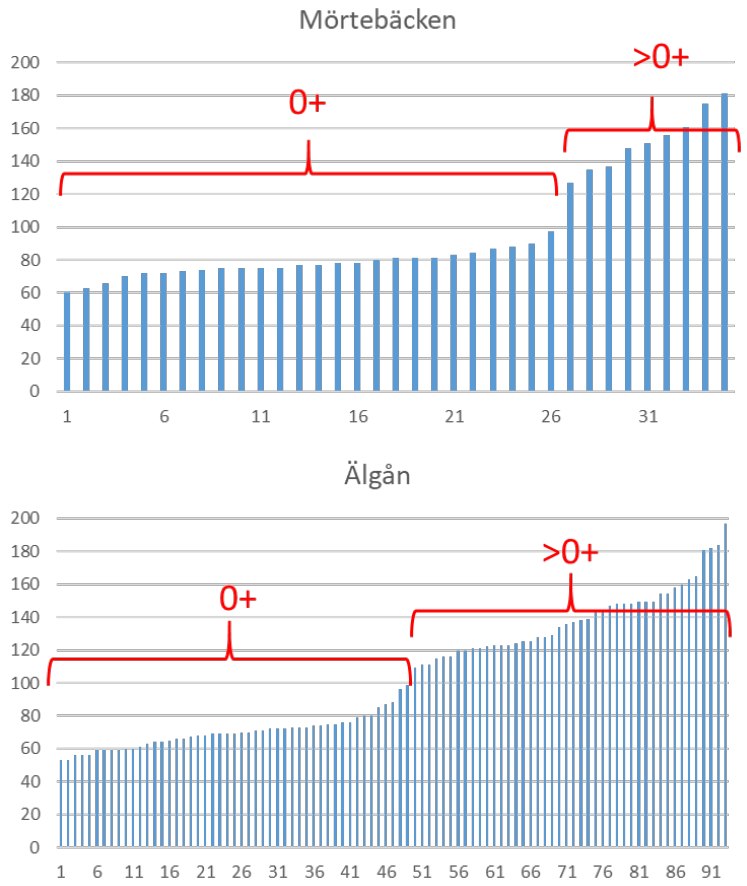
Figur 1. *Älgåns vattensystem, Värmlands län, med områden där öring insamlats för genetisk analys (detaljer i figur 4). På kartan anges även var en fiskräknare (FC) var placerad 2019 samt dammen vid Älgsjöns utlopp som eventuellt kommer att rivas.*

***Figur 2**. Fisktrappan nära Älgåns utlopp i Glafsfjorden (ovan) samt den fiskräknare som var i bruk hösten 2019 (nedan). Kameratunneln hade placerats ca 5 meter uppströms fisktrappans översta steg.*

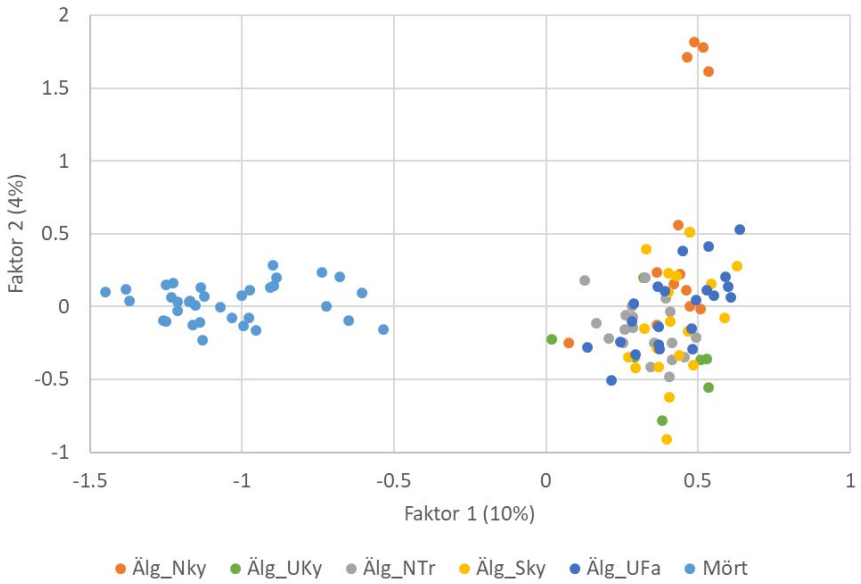


Figur 3*. Exempel på vildfödda oklippta (vänster) respektive odlade fettfeneklippta (höger) öringar filmade vid passage genom fiskräknaren i nedre Älgån, hösten 2019.*

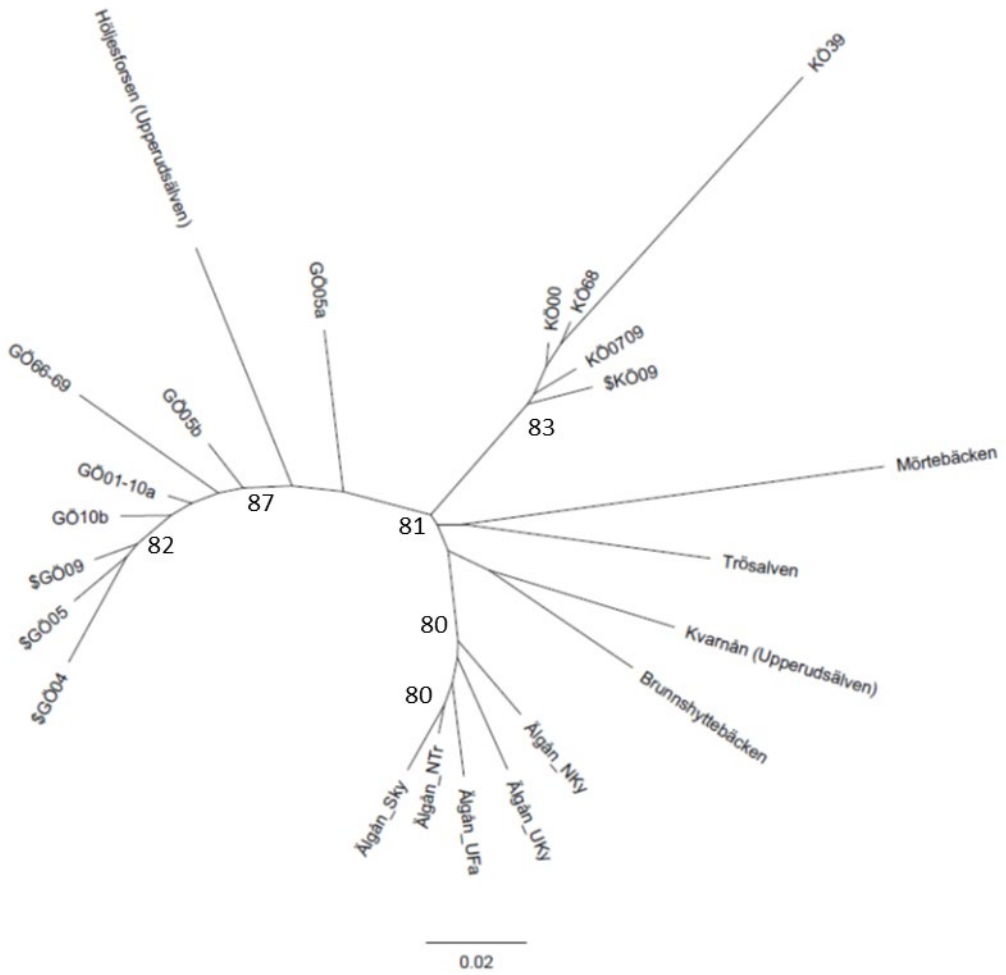
***Figur 4**. Elfiskelokaler i Älgån (5 st.) samt Mörtebäcken (1 st.) där vävnadsprov från öringungar (0+ samt äldre) samlades in hösten 2020.*



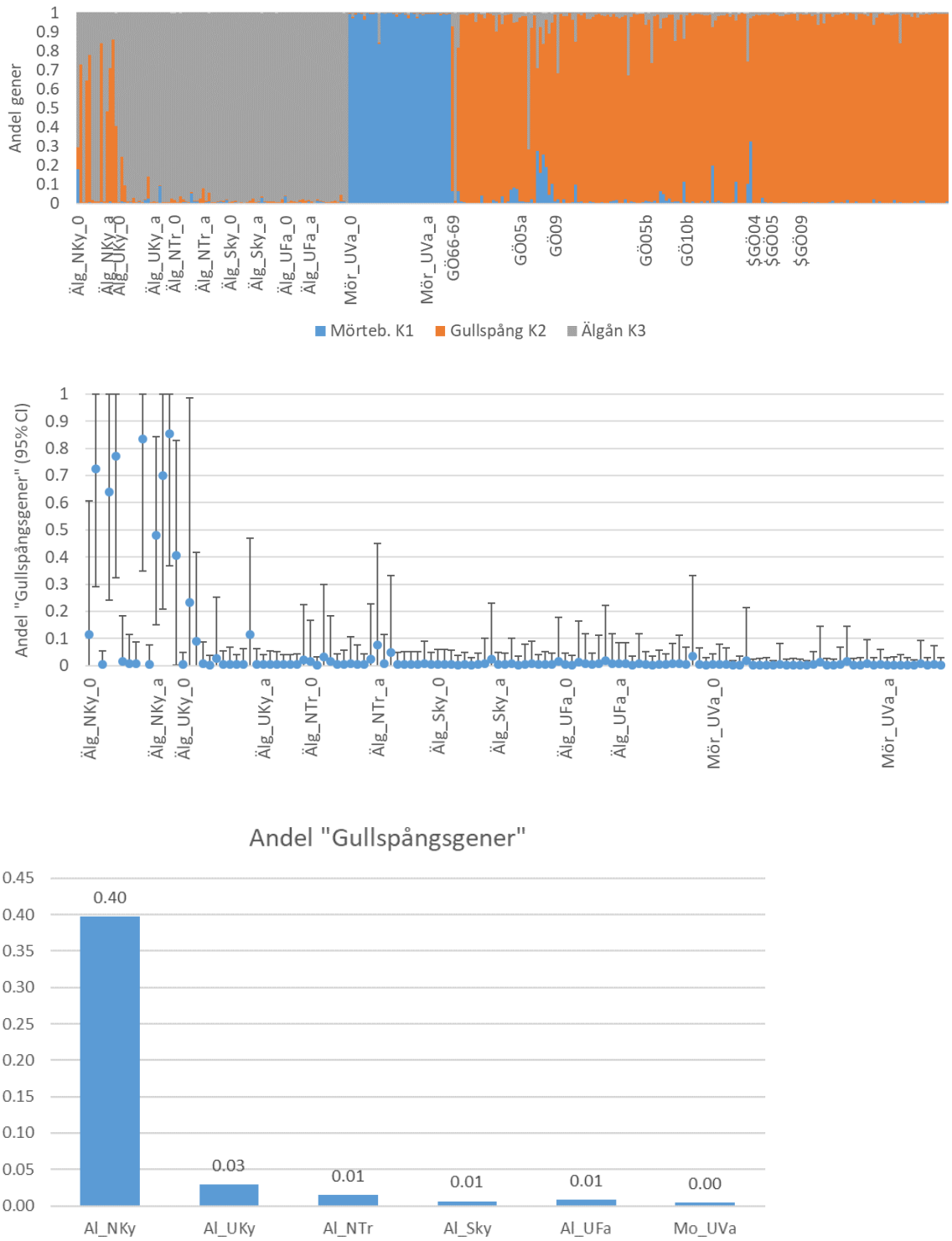
***Figur 5**. Uppdelning av elfiskade öringungar från Älgån och Mörtebäcken till förmodade åldersklasser. Individernas längd (mm) visas med staplar, där 100 mm använts som gräns för att separera sannolika årsungar (0+) från äldre stirr (>0+). Siffrorna på x-axlarna utgör löpnummer.*



***Figur 6**. Resultat efter faktoriell korrespondensanalys (programmet GENETIX). Varje punkt motsvarar en individuell genotyp (16 mikrosatelliter, n=128). De fyra tydligt avvikande individerna överst till höger från elfiskelokalen "Nedströms kyrkan" i Älgån ("Älg_NKy") har en hög skattad andel gener från Gullspångsöring (enligt oberoende analys med STRUCTURE; figur 8).*



***Figur 7**. Orotat dendrogram ("släktskapsträd") baserat på parvisa genetiska avstånd (10 mikrosatelliter). Utöver dellokaler från Älgån och Mörtebäcken (efter helsyskonreduktion, åldersklasser sammanslagna) ingår tidigare undersökta stickprov med vildfödd samt odlad ($) öring från andra vattensystem kring Vänern: Gullspångsälven (GÖ och Trösälven och Brunnshyttebäcken längre uppströms), Klarälven (KÖ) samt Upperudsälven (Höljesforsarna och Kvarnån). Siffror anger procentuellt statistiskt stöd för "noder" i trädet efter Bootstrap-analys (endast värden ≥ 80 % visade).*



***Figur 8**. Resultat efter analys med STRUCTURE (K=3). Övre delfiguren: varje stapel motsvarar en individ där färgerna anger skattad andel av genomet från de tre "genetiska kluster" som motsvarar Älgån (grå), Mörtebäcken (blå) respektive Gullspångsälven (orange). Mellersta delfiguren: individuell andel gener från Gullspångsöring (punktskattning med 95 % konfidensintervall) från samma analys (endast öring från Älgån-Mörtebäcken). Nedersta delfiguren: genomsnittlig andel "Gullspångsgener" per elfiskad lokal i Älgån-Mörtebäcken (se karta i figur 4). För förklaring av stickprovskoder (x-axlarna) hänvisas till tabell 1 respektive tabell 1b i Palm et al. (2012).*

Tabell 1. Antal DNA-analyserade öringar från Älgån-Mörtebäcken per elfiskelokal och bedömd åldersklass, före respektive efter reduktion av större helsyskongrupper (se texten). H_E utgör genomsnittlig förväntad heterozygositet medan AR (”Allelic Richness”) är ett mått på antalet observerade anlagsvarianter (beräknat med hänsyn till skilda materialstorlekar). F_{IS} anger skattade avvikelser från genotyp-proportioner förväntade enligt Hardy-Weinbergs lag (negativa värden vid överskott av heterozygoter och vice versa). Samtliga genetiska parametrar representerar genomsnitt beräknade för 16 mikrosatelliter efter helsyskonreduktion.

Vattendrag/lokal		Provkod	Bedömd ålder	Antal fiskar	Antal fiskar (red.)	H_E	AR (2 diploider)	F_{IS}
Älgån	Ns kyrkan	Al_NKy_0	0+	10	9	0.67	2.6	-0.13 **
- " -	- " -	Al_NKy_a	>0+	4	2	0.47	2.2	-0.20
- " -	Us kyrkan	Al_UKy_0	0+	12	11	0.65	2.6	0.01
- " -	- " -	Al_UKy_a	>0+	7	7	0.58	2.3	-0.01
- " -	Ns trumman	Al_NTr_0	0+	10	10	0.63	2.5	-0.06
- " -	- " -	Al_NTr_a	>0+	9	9	0.69	2.6	0.05
- " -	Skyberg	Al_Sky_0	0+	9	8	0.66	2.6	0.00
- " -	- " -	Al_Sky_a	>0+	10	5	0.68	2.6	-0.11
- " -	Us fallet	Al_UFa_0	0+	8	8	0.66	2.5	-0.02
- " -	- " -	Al_UFa_a	>0+	14	8	0.67	2.6	-0.13 **
Mörtebäcken	Us vägen	Mo_UVa_0	0+	26	18	0.58	2.3	-0.08 *
- " -	- " -	Mo_UVa_a	>0+	9	6	0.50	2.1	-0.17 *

* *P* <0,05; ** *P* <0,01

Tabell 2. Parvisa genetiska jämförelser av öringar från Älgån-Mörtebäcken, uppdelade på elfiskelokal och bedömd åldersklass. Ovan diagonalen: frekvensskillnader för anlagsvarianter kvantifierade med F_{ST} (genomsnitt 16 mikrosatelliter, efter helsyskonreduktion; jfr. tabell 1). Under diagonalen: grad av statistisk signifikans med hänsyn taget till upprepade test (66 st.).

	Al_NKy_0	Al_NKy_a	Al_UKy_0	Al_UKy_a	Al_NTr_0	Al_NTr_a	Al_Sky_0	Al_Sky_a	Al_UFa_0	Al_UFa_a	Mo_UVa_0	Mo_UVa_a
Al_NKy_0		0.12	0.06	0.07	0.04	0.04	0.06	0.03	0.05	0.03	0.22	0.24
Al_NKy_a	NS		0.07	0.14	0.13	0.10	0.14	0.13	0.15	0.14	0.28	0.36
Al_UKy_0	NS	NS		0.04	0.04	0.03	0.04	0.03	0.06	0.05	0.21	0.24
Al_UKy_a	NS	NS	NS		0.06	0.04	0.08	0.07	0.06	0.03	0.25	0.29
Al_NTr_0	NS	NS	*	**		0.03	0.03	0.03	0.06	0.06	0.20	0.23
Al_NTr_a	NS	NS	NS	NS	NS		0.02	-0.02	0.03	0.01	0.18	0.21
Al_Sky_0	NS	NS	NS	NS	NS	NS		0.01	0.06	0.04	0.23	0.26
Al_Sky_a	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS		0.05	0.02	0.21	0.25
Al_UFa_0	NS	NS	*	NS	*	NS	*	NS		0.00	0.23	0.26
Al_UFa_a	NS	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS		0.21	0.24
Mo_UVa_0	***	NS	***	***	***	***	***	**	***	***		0.01
Mo_UVa_a	**	NS	**	*	*	*	*	NS	NS	*	NS	

* P<0,05;** P<0,01; *** P<0,001