

Morfometrisk och konditionsmässig variation hos *Platichthys flesus* i Östersjön

-Jämförelse mellan utsjölekande och kustlekande skrubbskädda



Anna-Li Jonsson

Uppsats för avläggande av naturvetenskaplig kandidatexamen i
Marin vetenskap
15 hp

Institutionen för Biologi och Miljövetenskap
Göteborgs universitet

Extern handledare: Ann-Britt Florin
Institutionen för akvatiska resurser
Sveriges Lantbruksuniversitet

Intern handledare: Leif Pihl
Institutionen för Biologi och Miljövetenskap
Göteborgs universitet



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Institutionen för akvatiska resurser



GÖTEBORGS UNIVERSITET

Omslagsfoto: Anna-Li Jonsson

Sammanfattning

Skrubbskädda (*Platichthys flesus*) har som respons på de speciella miljöförhållanden som råder i Östersjön utvecklat två olika reproduktionsstrategier; lek på djupt vatten med pelagiska ägg (utsjölekande) respektive lek på grunt vatten med demersala ägg (kustlekande). Flera skillnader har observerats mellan lektyperna; bland annat skillnad i tillväxt och genetik. För att arten ska kunna förvaltas på ett bra sätt är det viktigt att man kan separera och identifiera lektyperna. En billig och enkel metod som skulle kunna användas för identifiering är morfometrisk analys. Syftet med den här studien var att undersöka om det finns morfometriska skillnader mellan lektyperna. Detta gjordes genom landmärkesbaserad morfometri med 78 individer fångade i Hanöbukten och öster Gotland under lekperioden. Ett annat syfte var att undersöka om det finns en skillnad i kondition.

Morfometriska variabler analyserades med principalkomponentsanalys, multivariat analys av covarians och diskriminant funktionsanalys. Resultatet visade att det finns en viss morfometrisk skillnad mellan lektyperna, men att skillnaden är större mellan könen och att det även finns skillnad mellan fångstområdena. Inga signifikanta skillnader i kondition upptäcktes vid t-test mellan lektyperna. Test mellan könen och mellan fångstområdena visade att hanar har högre kondition än honor under lekperioden och individer från Hanöbukten har högre kondition än individer från Gotland. Fortsatta studier, med fler individer, krävs för att vidare undersöka möjligheterna att använda morfometrisk analys som en metod för att identifiera lektyperna.

Abstract

The European flounder (*Platichthys flesus*) has, in response to the special environmental conditions in the Baltic Sea, evolved two different spawning strategies; deep water spawning with pelagic eggs (offshore spawning) and shallow water spawning with demersal eggs (coastal spawning). Several differences have been observed between the two spawning types, including differences in growth and genetics. In order to manage the species effectively the two spawning types have to be separated and identified. A cheap and simple identification method that could be used is morphometric analysis. The aim of this study was to investigate if there are any morphometric differences between the spawning types. This was done using landmark based morphometrics with 78 specimens caught in the Hanö bight and east of Gotland during spawning season. Another aim was to investigate if there is a difference in condition. Morphometric variables were analyzed with principal components analysis, multivariate analysis of covariance and discriminant function analysis. The result showed that there are some morphometric differences between spawning types, but the differences are bigger between sexes. The result also showed differences between sampling areas. No significant difference was found in condition in t-test between spawning types. Test between sexes and between sampling areas revealed higher condition for males during spawning and higher condition for fish from the Hanö bight. Further studies, with more specimens, are necessary in order to evaluate the possibilities of using morphometric analysis as a method for identification of spawning types.

Innehållsförteckning

1. Introduktion.....	1
2. Metod	2
2.1 Insamling av individer.....	2
2.2 Lektypsbestämning.....	2
2.3 Morfometriska analyser	4
2.4 Analys av kondition	5
3. Resultat.....	6
3.1 Morfometri.....	6
3.2 Kondition	10
4. Diskussion.....	10
5. Slutsats	12
6. Tack.....	12
7. Referenser	12

1. Introduktion

Skrubbskädda, *Platichthys flesus*, är en marin fiskart som har en mycket bred spridning, både geografiskt och ekologiskt (Hemmer- Hansen et al. 2007). I Östersjön, som är ett stort innanhav med bräckt vatten, befinner sig arten på randen av sitt utbredningsområde.

Ekosystemet i Östersjön är speciellt på grund av det begränsade utbytet med det öppna havet och de låga och varierande salthaltsförhållandena. Endast en smal och grund förbindelse förenar Östersjön med Nordsjön. En salthaltsgradient finns från de sydvästra delarna (ca 8 psu i ytvattnet) till de nordliga delarna (ca 3 psu i ytvattnet) och det finns även en vertikal gradient med en högre salthalt under haloklinen (se t.ex. Bernes 2005). Stora inflöden av syrerikt saltvatten sker sällan. Mellan inflödena pågår stagnation i de djupa delarna och salt- och syrgashalten minskar. Periodvis är djupvattnet helt syrgasfritt. (Matthäus och Lass 1995). Populationer som lever i ett brackvatten-ekosystem ”är ofta isolerade och under extremt selektionstryck, vilket resulterar i genetiska avvikelser” (Johannesson och André 2006).

Den låga salthalten i Östersjön gör att skrubbskäddans reproduktion försvåras. De pelagiska ägg, som arten vanligtvis har (se Florin 2005), har sämre flytkraft i det utsötade vattnet och riskerar att sjunka ner till bottenvattnet där syrgashalten är låg och äggen dör. Om salthalten understiger cirka 11 psu förlorar spermerna simförmågan så att befruktning inte kan ske (Nissling et al. 2002). För att hantera detta problem har arten utvecklat två olika reproduktionsstrategier; lek på djupt vatten med pelagiska ägg (utsjölekande) respektive lek på grunt vatten med demersala ägg (kustlekande). De utsjölekande populationerna har ägg som är större och har lägre densitet så att de kan flyta vid en lägre salthalt än ägg hos populationer som lever utanför Östersjön. De kustlekande populationerna har ägg som är mindre och har högre densitet än de pelagiska samt spermier som kan simma vid salthalter ner till cirka 3 psu. Detta möjliggör att befruktning kan ske även vid en låg salthalt i grunda områden (Nissling et al. 2002). Fekunditeten är högst hos de kustlekande populationerna och tillväxten är snabbast hos de utsjölekande populationerna. Detta tyder på att de kustlekande satsar relativt mer energi på reproduktiv tillväxt än på somatisk tillväxt jämfört med de utsjölekande (Nissling och Dahlman 2010). Det finns även genetiska skillnader mellan de två lektyperna (Florin och Höglund 2008; Hemmer-Hansen et al. 2007).

Enligt en expertgrupp i Internationella havsforskningsrådet (ICES) finns det fem populationer av utsjölekande och sex populationer av kustlekande skrubbskädda (ICES 2010). De utsjölekande populationerna förekommer från Bälthavet och Öresund upp till Egentliga Östersjön och de kustlekande förekommer från Egentliga Östersjön upp till Finska viken och Bottenhavet. I Egentliga Östersjön sker leken i april – juni (se Florin 2005). Längre söder- och västerut sker leken något tidigare. Utanför lekperioden förekommer de två lektyperna blandat där deras respektive utbredningsområde överlappar (ICES 2010).

Skrubbskädda är den kommersiellt viktigaste plattfischen för fisket i Östersjön (ICES 2013). Landningarna ligger runt 15 000 ton per år och huvuddelen av fisket sker i södra Östersjön. I Sverige landas cirka 160 ton per år. Skrubbskädda fångas främst som bifångst i torskfisket och 80-90 % av landningarna består av utsjölekande skrubbskädda (ICES 2013).

Det är viktigt att kunna identifiera och separera lektyperna för att arten ska kunna förvaltas på ett bra sätt (Laikre et al. 2005). Detta eftersom tillväxten skiljer sig åt mellan lektyperna och eftersom de

leker i olika typer av områden, vilket leder till att rekryteringen påverkas olika. I dagsläget finns dock ingen enkel och billig metod för att skilja på lektyperna. Ett exempel på en sådan metod skulle kunna vara morfometrisk analys. Vid landmärkesbaserad morfometri "analyseras data härledd från diskreta morfometriska punkter, linjära avstånd mellan punkter och geometriska relationer bland punkter" (Cadrin 2005). Den teknikutveckling som har skett under de senaste decennierna har förbättrat metoden och idag är det enkelt att, med hjälp av digitala fotografier, utföra analyser (Cadrin och Friedland 1999). Eftersom skillnad i tillväxt resulterar i morfometrisk variation (Cadrin 2005) kan man förvänta sig att det finns en sådan variation mellan de två lektyperna av skrubbskädda.

Det huvudsakliga syftet med den här studien är att undersöka om det finns morfologisk skillnad mellan individer hos skrubbskädda som leker på djupt vatten med pelagiska ägg (utsjölekande), respektive de som leker på grunt vatten med demersala ägg (kustlekande). Om en sådan skillnad finns, kan då morfometrisk analys användas för att identifiera dem? Ett annat syfte är att undersöka om det finns en skillnad i kondition mellan de två lektyperna.

Studien har följande hypoteser:

- 1) Kustlekande och utsjölekande skrubbskädda har olika morfologi
- 2) Kustlekande och utsjölekande skrubbskädda har olika kondition

2. Metod

2.1 Insamling av individer

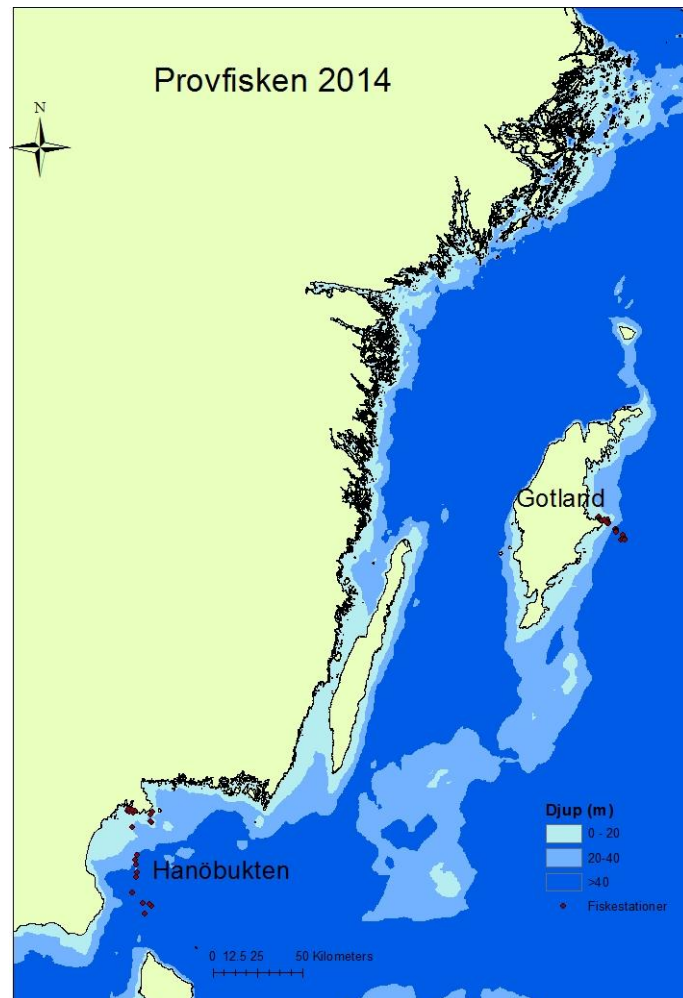
Insamling av individer utfördes under provfischen för projektet BONUS-INSPIRE, med nät, i Hanöbukten i april 2014 samt öster om Gotland (utanför Herrvik) i maj 2014 (figur 1). Lekande individer till studien togs från djupintervallen 10-20 m och 40-80 m i Hanöbukten respektive 3-20 m och 40-80 m vid Gotland. Fisket utfördes under lekperioden för att möjliggöra insamling av lekande individer. Endast högervända individer ingick i studien för att utesluta effekter av vridenhet på morfologin. I Östersjön är 80% av individerna högervända (se Florin 2005).

2.2 Lektypsbestämning

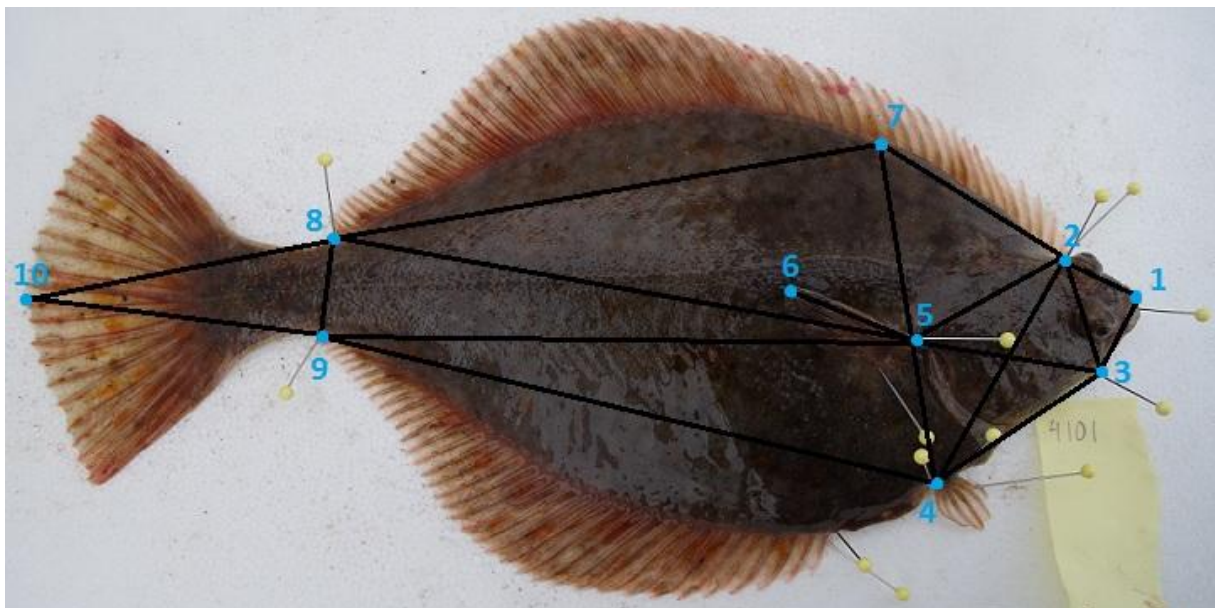
För individer från grunda områden (<20 m) i Hanöbukten samt grunda och djupa (>40 m) områden öster om Gotland bestämdes lektypen genom reproduktionsförsök (utförda av Anders Nissling och Isa Wallin från Uppsala Universitet Campus Gotland) med lekande individer. Se tabell 3 för antal individer.

Äggen befruktades, genom att blanda ägg och spermier i en behållare med vatten med salthalt 10,5 psu, för att säkerställa befruktning. Sedan bestämdes flytkraften hos befruktade ägg genom att jämföra dem med positionerna för kulor med känd densitet i ett provrör med en vertikal salthaltsgradient. Ägg från kustlekande skrubbskädda flyter vid cirka 20 psu och ägg från utsjölekande skrubbskädda flyter vid 10-15 psu (Nissling et al. 2002).

Spermiers simförmåga i en viss salthalt är avgörande för att befruktning ska kunna ske. Simförmågan undersöktes i olika salthalter (6, 7.5, 10.5 och 15 psu) och noterades som snabbsimmande, långsamsimmande och stilla. Kustlekande skrubbskädda från Hanöbukten och Gotland har spermier som simmar vid salthalter ner till 7,5 respektive 6 psu. Utsjölekande skrubbskädda från båda



Figur 1 Karta med provfiskestationer för insamling av skrubbskädda (*Platichthys flesus*).



Figur 2 Morfometriska landmärken (numrerade blå prickar) och avstånd (svarta linjer) mellan punkter, så kallat truss network.

lokalerna har spermier som simmar vid de två högre salthalterna, men är stilla vid de två lägre (Nissling, personlig kommunikation).

En hane som fångades vid de grunda stationerna i Hanöbukten kunde inte ingå i reproduktionsförsöken på grund av att för få spermier kom ut. Denna individ antogs tillhöra den kustlekande typen. På grund av hård blåst blev datumet för fisket av de djupa stationerna (>40 m) i Hanöbukten förskjutet och detta

medförde att reproduktionsförsök inte kunde genomföras för individer som fångades vid detta tillfälle. Lekande individer från de djupa stationerna antogs tillhöra den utsjölekande typen.

Tabell 1 Beskrivning av morfometriska landmärken.

Landmärke	Beskrivning
1	Nosspets
2	Främre insättning av ryggfenan
3	Bakre ände av käkben
4	Bakre insättning av bukfenan
5	Dorsal insättning av bröstfenan
6	Bröstfenans spets
7	Insättning av ryggfenan i linje med 4 och 5
8	Bakre insättning av ryggfenan
9	Bakre insättning av analfena
10	Stjärtfenans spets (i linje med sidolinjen)

2.3 Morfometriska analyser

Varje individ placerades, med ögonsidan uppåt på en vit frigolitplatta och fixerades med nålar. Fenor spärrades ut och punkter markerades med nålar för att underlätta senare placering av landmärken. Fotografering skedde på ett fixt avstånd och en linjal placerades bredvid fisken för att ge en uppskattning om skalan.

Fotografierna bearbetades i mjukvaruprogrammet tpsDig2. Landmärken markerades på fisken enligt figur 2. För att undvika att resultaten påverkades av höga mätfel analyserades fem individer fem gånger och sedan beräknades standardavvikelsen för landmärkenas koordinater. Den högsta standardavvikelse som observerades var

0,07 cm. Inga landmärken uteslöts därför på grund av hög standardavvikelse. Fotografierna bearbetades i slumpvis ordning (för respektive fångstområde) för att undvika att resultatet påverkas av att man blir mer eller mindre noggrann under arbetets gång. Landmärkena användes till att skapa ett så kallat truss network (figur 2, tabell 1) där avstånd (figur 2, tabell 2) mellan valda landmärken beräknas med Pythagoras sats. Med denna metod beskrivs fiskens form på ett mer omfattande sätt jämfört med traditionella mätningar (Cadrin och Friedland 1999). Landmärken och truss network valdes med inspiration från en morfometrisk studie utförd av Cadrin och Silva (2005) på plattfisk *Limanda ferruginea*. I den studien används två landmärken som markerar centrum av respektive öga. Dessa valdes bort eftersom hanteringen av fisken medförde att en del individer hade intryckta ögon

Tabell 2 Beskrivning av beräknade avstånd mellan landmärken.

Avstånd	Namn
1-2	Noslängd 1
1-3	Noslängd 2
2-3	Huvudets bredd
2-4	Huvudets längd 1
3-4	Huvudets längd 2
2-5	Huvudets längd 3
3-5	Huvudets längd 4
2-7	Huvudets längd 5
4-5	Bukens bredd
5-7	Ryggens bredd
5-6	Bröstfenans längd
5-8	Kroppslängd 1
7-8	Kroppslängd 2
4-9	Kroppslängd 3
5-9	Kroppslängd 4
8-9	Stjärtspolens bredd
8-10	Stjärtspolen och stjärtfenans längd 1
9-10	Stjärtspolen och stjärtfenans längd 2

och en del hade utåtstående. Som ersättning valdes ett landmärke vid den främre insättningen av rygghenen.

För att variationen i de beräknade variablerna ska kunna associeras med kroppsform är det viktigt att korrigera för storlek (Turan 1998). Detta gjordes med olika metoder i de tre analyser som utfördes.

Principalkomponentsanalyser (PCA) utfördes för att undersöka vilka variabler som orsakar den största delen av variationen mellan individer. Innan analysen standardiserades de beräknade avstånden till ett medelvärde på noll och en standardavvikelse på ett för att ge alla variabler en jämlig grund i analysen (Timmerman 2005). Avstånden korrigerades för storlek genom att den första komponenten (PC1) antogs representera övergripande storlek. Detta antagande gäller om alla variabler korrelerar positivt, och ungefär lika mycket, med PC1 (Cadrin 2005). Individer som fick komponentpoäng (PC-poäng) större än 3 eller mindre än -3 för de tre första komponenterna analyserades igen för att utesluta mätfel (Cadrin och Silva 2005).

Multivariat analys av covarians (MANCOVA) utfördes för att undersöka effekter av lektyp, kön, fångstområde och deras interaktioner på formen. De uppmätta avstånden standardiserades och användes som oberoende variabler. Totallängd (uppmätt under individprovtagning) användes som covariat för att, genom regressionsanalys, ta bort effekten av storlek. Lektyp, kön och fångstområde användes som fixa variabler.

Diskriminant funktionsanalys (DFA) utfördes för att undersöka vilka variabler som orsakar variation mellan grupper (lektyp, kön, fångstområde). Innan analys storlekskorregerades de beräknade avstånden genom division med totallängden. Effektiviteten av storlekskorrigeringen utvärderades med korrelationsanalyser mellan totallängden och var och ett av de transformerade avstånden. En signifikant korrelation tyder på ett ofullständigt avlägsnande av storlekseffekten (Turan 1998) och de variabler som uppvisade en sådan uteslöts ur analysen. Därefter standardiserades de transformerade avstånden. Analysen skapade en klassifikationsfunktion som användes för att dela in individerna i förmodade grupper. Chi-statistiken som motsvarar Wilks lambda i analysen användes som en indikation på klassifikationsfunktionens signifikans. Om den är icke-signifikant tyder det på att skillnaden mellan grupperna är så liten att funktionen inte kan användas för att klassificera dem (The University of Texas). (Wilks lambda är andelen, av den totala variationen, som inte förklaras av skillnaden mellan grupper (The University of Texas).) Korrektheten av klassifikationen utvärderades med "jackknife"-klassifikation där var och en av individerna successivt utelämnas och de resterande klassificeras för att utveckla en funktion som kategoriserar den utelämnade individen (Cadrin och Silva 2005). En bra klassifikationsfunktion, baserad på individer med känd grupptillhörighet, kan användas för att klassificera individer med okänd grupptillhörighet (Dytham 2010).

Alla statistiska analyser utfördes i statistikprogrammet SPSS.

2.4 Analys av kondition

Efter fotografering noterades individernas totallängd, totalvikt och somatisk vikt (utan lever, mage, tarm och gonader). Konditionen beräknades med Fultons konditionsfaktor (somatisk vikt/totallängd³). Skillnad i kondition testades med standard t-test (alfa=0,05) (i Excel) mellan lektyperna, könen och fångstområdena för samtliga individer samt för endast hanar. I de fall där stickprovstorlekarna skiljde sig mycket åt slumpades individer från den största gruppen så att stickproven fick samma storlek.

Tabell 3 Totalt antal individer, antal individer i reproduktionsförsök och totallängd (påbörjad centimeter) av hanar och honor av kust- och utsjölekande skrubbskädda (*Platichthys flesus*) insamlade i Hanöbukten respektive öster om Gotland (utanför Herrvik).

	Hanöbukten		Gotland	
	Hanar	Honor	Hanar	Honor
<u>Kustlekande:</u>				
Antal, totalt	10	1	27	10
Antal, reproduktionsförsök	9	1	27	10
Längd (cm)	23-31	31	19-29	26-36
<u>Utsjölekande:</u>				
Antal, totalt	18	4	6	2
Antal, reproduktionsförsök	-	2	6	2
Längd (cm)	25-36	25-40	20-30	29-33

3. Resultat

Totalt ingick 78 individer i studien (tabell 3). Av dessa ingick 58 individer i reproduktionsförsöken. Resterande individer (arton hanar och två honor) fångades vid de djupa stationerna i Hanöbukten och antogs tillhöra den utsjölekande typen eftersom de var lekmogna och befann sig på lekplatsen för utsjölekare. Reproduktionsförsöken visade att 2 individer (av totalt 11) som fångades vid de grunda stationerna i Hanöbukten och att 1 individ (av totalt 34) som fångades vid de grunda stationerna utanför Gotland tillhörde den utsjölekande typen. Vidare visade försöken att 4 individer (av totalt 11) som fångades vid de djupa stationerna utanför Gotland tillhörde den kustlekande typen. Detta tyder på att ett endast ett fåtal individer befann sig på "fel" djup under leken (kustlekande leker på grunt vatten och utsjölekande leker på djupt vatten).

3.1 Morfometri

I principalkomponentsanalysen stod den första principalkomponenten (PC1) för 88,1% av den totala variationen. Alla variabler korrelerade positivt och ungefär lika mycket med PC1 (tabell 4) och därför stämmer antagande om att denna komponent representerar övergripande storlek. Den andra principalkomponenten (PC2) stod för 3,9% av den totala variationen. PC2 korrelerade mest med avstånd som beskriver bröstfenans relativa position och huvudets relativa storlek (2-5, 2-7 och 5-7 korrelerade positivt och 7-8 korrelerade negativt) (tabell 4). Endast en individ fick PC-poäng som var större än 3 eller mindre än -3. Återanalysen av individen tydde inte på något mätfel och individen behölls i analysen för att representera naturlig morfometrisk variation. PC-poäng överlappade delvis för lektyperna och fångstområdena (figur 3 a och b). Mellan lektyperna syntess dock att kustlekande individer hade lägre PC1-poäng (mindre storlek) och lägre PC2-poäng (bröstfenan placerad relativt längre fram och relativt kortare huvud). Mellan fångstområdena var PC1-poängen lägre för individer från Gotland (mindre storlek), men ingen skillnad syntess för PC2-poängen. För könen överlappade PC-poängen så mycket att ingen skillnad kunde ses (figur 3 c).

Multivariat analys av covarians visade på att det fanns signifikanta morfometriska skillnader mellan könen (tabell 5). Därför utfördes en analys med endast hanar för att undersöka effekten av lektyp, fångstområde och deras interaktioner på formen. Denna analys visade på att det finns signifikanta morfometriska skillnader mellan fångstområdena (tabell 6). Övriga effekter var icke-signifikanta.

I MANCOVA-analysen med endast hanar var dock effekten av lektyp nästan signifikant (tabell 6). För honor samt för de respektive fångstområdena var stickproven för små för att enskilda analyser skulle kunna genomföras.

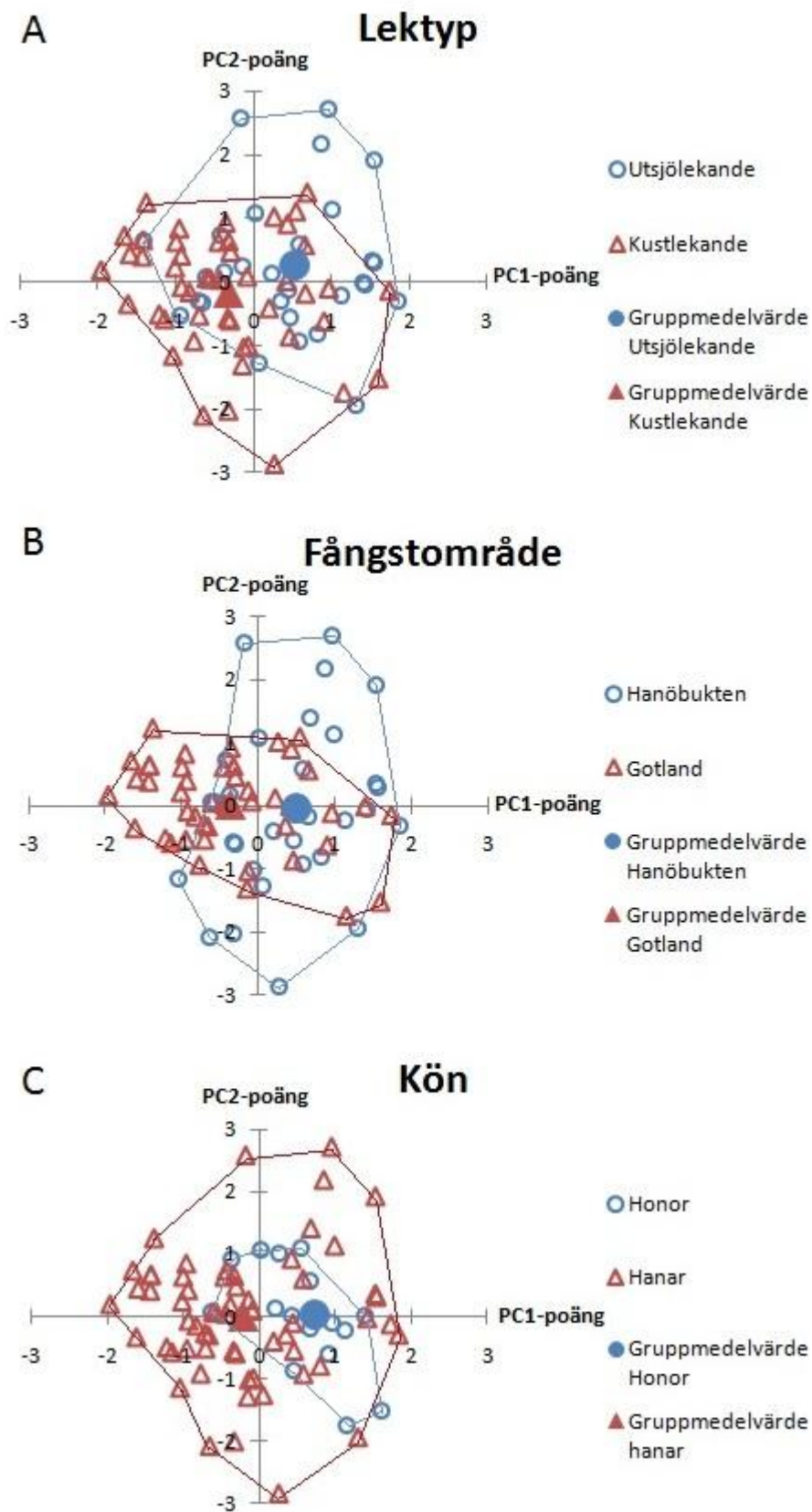
Korrelationsanalysen som föregick DFA visade att fem (3-4, 3-5, 5-8, 8-9, 9-10) av de avstånd som hade korrigerats för storlek, genom division med totallängd, korrelerade signifikant med totallängd. Dessutom var korrelationen för avståndet 2-5 nära signifikant ($p=0,094$). Dessa sex avstånd uteslöts ur DFA eftersom storlekskorrigeringen inte var tillräckligt effektiv.

Resultat från DFA visas i tabell 7 och 8. Wilks lambda visar hur stor andel, av den totala variationen, som inte förklaras av skillnaden mellan grupper. Den diskriminanta klassifikationsfunktionen, med alla individer och med lektyp som grupperingsvariabel, var icke-signifikant (tabell 7) vilket tyder på att skillnaden mellan lektyperna var så liten att den inte kan användas för att klassificera dem. I analysen med kön som grupperingsvariabel var klassifikationsfunktionen signifikant (tabell 7) och korrektheten av klassifikationen var 91,0%. Funktionens medelvärden för grupperna var 0,671 för hanar respektive -2,407 för honor. Strukturmatrisen visade på att honor har bröstfenan placerad relativt längre bak (vilket gör att huvudet blir större) och att ryggen och buken är bredare (5-9 korrelerade positivt och 4-5, 4-9 och 5-7 korrelerade negativt) samt att ryggfenas främre insättning sitter längre fram (2-7 korrelerade positivt) (tabell 8, kolumn 2).

Eftersom skillnader upptäcktes mellan könen utfördes analyser med endast hanar för att klassificera individer till lektyp och fångstområde. Båda klassifikationsfunktionerna var signifikanta (tabell 7) och korrektheten av klassifikationerna var 59,0% för lektyp respektive 68,9% för fångstområde. För lektyperna var funktionens medelvärden 0,561 för kustlekande respektive -0,865 för utsjölekande individer. Strukturmatrisen visade på att kustlekande individer har relativt bredare huvud (2-3, 2-4 och 4-5 korrelerade positivt) och relativt kortare huvud (2-7 korrelerade negativt) (tabell 8, kolumn 3). För fångstområdena var funktionens medelvärden 1,068 för Hanöbukten respektive -0,906 för Gotland. Strukturmatrisen visade på att individer från Hanöbukten har kortare stjärtfena (8-10 korrelerade negativt) och att bukfenan sitter relativt längre fram (2-4 korrelerade negativt) (tabell 8, kolumn 4). För honor samt för de respektive fångstområdena var stickproven för små för att enskilda analyser skulle kunna genomföras.

Tabell 4 Resultat från principalkomponentsanalys (PCA) av samtliga individer. Korrelationer för de beräknade avstånden (mellan morfometriska landmärken) med komponenterna PC1 och PC2. Starka korrelationer markerade med fetstil.

Avstånd	Komponent	
	PC1	PC2
1-2	0,829	-0,231
1-3	0,952	0,126
2-3	0,947	-0,127
2-5	0,956	0,236
3-5	0,965	0,167
2-4	0,983	0,002
3-4	0,974	-0,005
4-5	0,896	0,012
2-7	0,846	0,508
5-6	0,924	0,029
5-7	0,929	0,285
5-8	0,963	-0,201
7-8	0,947	-0,263
4-9	0,963	-0,129
5-9	0,964	-0,194
8-9	0,931	-0,138
8-10	0,960	-0,015
9-10	0,945	-0,030



Figur 3 Resultat med PC-poäng från principalkomponentsanalys med grupperingar enligt lektyp (A), fångstområde (B) och kön (C). PC1 motsvarar övergripande storlek och PC2 beskriver bröstfenans relativa position och huvudets relativa storlek.

Tabell 5 Resultat från multivariat analys av covarians (MANCOVA) som testade effekter av lektyp, kön, fångstområde och deras interaktioner på storlekskorrigerade och standardiserade variabler för alla individer. Signifikanta resultat markerade med fetstil.

Effekt	Wilks lambda	F	Hypotes df	Error df	P
Lektyp	0,827	0,604	18	52	0,880
Kön	0,245	8,923	18	52	0,000
Fångstområde	0,645	1,590	18	52	0,098
Lektyp * Kön	0,736	1,038	18	52	0,436
Lektyp * Fångstområde	0,663	1,470	18	52	0,140
Kön * Fångstområde	0,677	1,378	18	52	0,183
Lektyp * Kön * Fångstområde	0,650	1,556	18	52	0,109

Tabell 6 Resultat från multivariat analys av covarians (MANCOVA) som testade effekter av lektyp, fångstområde och deras interaktioner på storlekskorrigerade och standardiserade variabler för alla hanar. Signifikanta resultat markerade med fetstil.

Effekt	Wilks lambda	F	Hypotes df	Error df	P
Lektyp	0,554	1,746	18	39	0,072
Fångstområde	0,404	3,196	18	39	0,001
Lektyp * Fångstområde	0,600	1,446	18	39	0,165

Tabell 7 Värde för Wilks lambda och signifikansnivå för klassifikationsfunktionen i de diskriminanta funktionsanalyserna (DFA). Signifikanta resultat markerade med fetstil.

Stickprov	Grupperingsvariabel	Wilks lambda	P
Alla individer	Lektyp	0,796	0,194
Alla individer	Kön	0,376	0
Hanar	Lektyp	0,666	0,043
Hanar	Fångstområde	0,5	0

Tabell 8 Resultat för de beräknade avståndens korrelation med klassifikationsfunktionen i tre diskriminanta funktionsanalyser (DFA), med alla individer (kön som grupperingsvariabel) och endast hanar (lektyp respektive fångstområde som grupperingsvariabel). Innan analys korrigerades de beräknade avstånden för storlek (division med totallängd) och standardiserades. Starka korrelationer markerade med fetstil.

Stickprov	Alla individer	Hanar	Hanar
Grupperingsvariabel	Kön	Lektyp	Fångstområde
Avstånd	Korrelation	Korrelation	Korrelation
1-2	0,119	0,273	-0,052
1-3	-0,06	-0,179	-0,024
2-3	0,038	0,404	0,084
2-4	-0,278	0,701	-0,422
2-7	0,334	-0,471	0,107
4-5	-0,474	0,637	-0,259
4-9	-0,362	0,077	-0,141
5-6	0,219	0,125	-0,008
5-7	-0,335	0,213	-0,02
5-9	0,381	-0,075	0,235
7-8	0,248	-0,147	0,167
8-10	0,062	-0,209	-0,485

Tabell 9 Resultat från t-test för kondition med individer indelade i grupper utefter tre variabler (lektyp, kön, fångstområde). P-värde och t-kritiskt värde gäller för två-sidigt test. Signifikanta resultat markeras med fetstil.

Stickprov	Grupperingsvariabel	Frihetsgrader	t-kvot	p
Alla individer	Lektyp	76	-0,2318	0,8173
Alla individer	Kön	32	-2,3348	0,0260
Alla individer	Fångstområde	76	3,9364	0,0002
Hanar	Lektyp	59	-0,2819	0,7867
Hanar	Fångstområde	59	3,5721	0,0007

3.2 Kondition

Resultat från t-test visas i tabell 9. Test mellan lektyperna utfördes med samtliga individer (n=30 för utsjölekande och n=48 kustlekande) samt med endast hanar (n=24 för utsjölekande och n=37 kustlekande). T-testen visade inga signifikanta skillnader i kondition mellan lektyperna. Test mellan könen utfördes med samtliga honor (n=17) och lika många slumpvis valda hanar och visade att hanar har signifikant högre kondition. Mellan fångstområden utfördes test med samtliga individer (n=33 för Hanöbukten och n=45 för Gotland) samt med endast hanar (n=28 för Hanöbukten, n=33 för Gotland). Båda testen visade att individer från Hanöbukten har signifikant högre kondition. Inga separata test utfördes för de respektive fångstområdena eller med endast honor eftersom stickproven var små.

4. Diskussion

Morfometriska skillnader mellan lektyperna upptäcktes i PCA (alla individer) och i DFA (endast hanar). I MANCOVA (endast hanar) var skillnaden nästan signifikant. Morfometrisk skillnad beror delvis på skillnad i tillväxt (Cadrin 2005). Eftersom de två lektyperna har olika tillväxt är det därför rimligt att de skiljer sig åt morfometriskt. De skillnader som upptäcktes mellan lektyperna fanns främst hos de variabler som mätte huvudets form och dess relativa storlek. Detta stämmer delvis överens med de skillnader som har observerats i tidigare studier där man har undersökt morfometrisk variation mellan olika populationer av plattfiskar. Marques et al. (2006) upptäckte skillnader i bröstfenornas längd och huvudets längd mellan nordliga och centrala populationer av skrubbskädda längs med Portugals kust. Cadrin och Silva (2005) upptäckte skillnader i huvudets form, bukens bredd, kroppens längd och stjärtfenans längd mellan olika populationer av plattfisken *Limanda ferruginea* längs med Nordamerikas östkust.

De observerade skillnaderna mellan lektyperna var ganska små och överlappet av PC-poäng var stort. Det kan vara så att skillnaden i tillväxt inte är tillräckligt stor för att en markant morfometrisk skillnad ska uppstå. Hybridisering skulle också kunna förklara en del av överlappet. Enligt Nissling et al. (2014) kan hybridisering förekomma utanför Gotland eftersom en del kustlekande hanar har fångats på djupt vatten utan för Gotland under leken. Genetiska studier tyder också på att hybridisering förekommer utanför Gotland (Florin, personlig kommunikation). I skrivande stund pågår försök på Uppsala universitet, Campus Gotland för att undersöka om hybridisering är möjligt och hur överlevnaden ser ut för eventuella hybridlarver.

I MANCOVA och DFA upptäcktes morfologiska skillnader mellan fångstområden. Dessa kan bero på att tillväxten skiljer sig åt mellan fångstområdena. Tillväxten ökar med ökad temperatur och ökad salthalt (se Florin 2005) och skrubbskäddan blir större i södra Östersjön än i norra (se Nissling et al.

2014). Stickproven från de respektive fångstområdena var för små, i relation till antalet variabler, för att enskilda analyser skulle kunna utföras.

Stor skillnad mellan könen upptäcktes i MANCOVA och DFA, medan ingen skillnad kunde ses i PCA. Sexuell dimorfism (morfologisk skillnad mellan könen) har upptäckts hos flera plattfiskar (se Cadrin och Silva 2005) och skulle därför kunna finnas även hos skrubbskädda. DFA visade på att honor har större huvud och bredare rygg och buk vilket stämmer överens med de fynd som har gjorts för *Limanda ferruginea* (Cadrin och Silva 2005). Dock gjordes, i denna studie, ingen upptäckt av skillnad i bröstfenans längd så som gjordes i Cadrin och Silvas studie. Hos skrubbskädda, precis som hos många andra plattfiskar, har honor snabbare tillväxt (se Nissling et al. 2014; Florin 2005). Cadrin och Silva (2005) förmodar i sin studie att honornas stora huvud och breda buk underlättar deras snabba tillväxt och höga födointagshastighet.

Att de olika analyserna i vissa fall gav olika resultat kan bero på att sex avstånd uteslöts ur DFA (på grund av ofullständig storlekskorrigerings) och att olika storlekskorrigerings användes i de tre analyserna. Dessa tar bort storlekseffekten på olika sätt och med olika effektivitet. Dessutom har de metoder som användes, för storlekskorrigerings, i PCA och MANCOVA vissa problem som kan resultera i felaktiga borttaganden av storlekseffekten. Trots detta tillhör dessa de vanligaste metoderna (McCoy et al. 2006). Den metod som användes i DFA (division med totallängden) är en väldigt förenklad metod. En annan möjlig förklaring är att PCA undersöker vilka variabler som orsakar skillnad mellan individer, medan DFA undersöker vilka variabler som orsakar skillnad mellan grupper. Om den ena gruppen är mycket större än den andra så visar PCA främst skillnad inom den gruppen. För könen var det stor skillnad mellan stickprovstorlekarna (n=61 för hanar och n=17 för honor) vilket skulle kunna förklara varför ingen skillnad mellan könen upptäcktes i PCA. För fångstområdena var dock skillnaden mellan stickprovstorlekarna inte särskilt stor (n=33 för Hanöbukten och n=45 för Gotland) så i detta fall kan inte metodskillnaden förklara varför PCA och DFA gav olika resultat.

Att reproduktionsförsök inte kunde utföras för de individer som fångades vid de djupa stationerna samt för en individ som fångades vid de grunda stationerna i Hanöbukten innebär en viss risk för att dessa individer antogs tillhöra fel lektyp. Majoriteten av individerna kan dock antas vara korrekt bestämda eftersom individerna var lekande och befann sig på "rätt" djup under leken och eftersom endast en minoritet av de individer som ingick i reproduktionsförsöken befann sig på "fel" djup under leken. En annan faktor som stödjer antagandet att individer från djupa stationer i Hanöbukten tillhörde den utsjölekande typen är att inga populationer av kustlekande skrubbskädda finns i södra Östersjön enligt litteraturen (t.ex. Nissling et al. 2002; ICES 2013). Under fisket i Hanöbukten fångades likväl ett fåtal individer av den kustlekande typen vid de grunda stationerna. Om man ska förlita sig till litteraturen borde dock inte de kustlekande skrubbskäddorna vara särskilt talrika i Hanöbukten.

I denna studie upptäcktes inga signifikanta skillnader i kondition mellan lektyperna. En tidigare studie (Nissling et. al, opublicerad) visar att konditionen är mer relaterad till lokala förhållanden än till lektyp och att konditionen är högre för skrubbskädda från södra Östersjön jämfört med skrubbskädda från öster om Gotland. Detta stämmer överens med resultatet att individer från Hanöbukten har högre kondition. Nissling et al. (2014) visar att hanar har högre kondition än honor under leken, vilket också visas i denna studie. Under resten av året har dock honor högst kondition. För honor varierar konditionen mycket under året och den är lägst under leken. För hanar är

konditionen mer konstant, även om den är något lägre under leken (Nissling et al. 2014). Det kan därför vara bra att mäta konditionen vid flera tillfällen för att få en bättre uppfattning och variationen och skillnader mellan grupper.

Kan då morfometriska metoder användas för att identifiera lektyperna? Korrektheten för klassifikationsfunktionen i DFA var 59%. Denna siffra bör, genom ett randomiseringstest, jämföras med korrektheten för slumpvis klassifikation, vilket inte gjordes i denna studie på grund av tidsbrist. En bra klassifikationsfunktion kan användas för att klassificera okända individer. För att närmare undersöka möjligheterna att använda morfometrisk variation för att identifiera lektyperna bör fler individer ingå i studien och enskilda analyser bör utföras för de respektive fångstområdena och könen. Vid framtida studier bör även en bättre metod för storlekskorrigering användas för att resultatet ska bli mer tillförlitligt. McCoy et al. (2006) rekommenderar storlekskorrigering genom "common principal component analysis" kombinerat med "Burnaby's back-projection method".

5. Slutsats

Sammanfattningsvis kan man säga att de morfometriska skillnaderna är större mellan könen än mellan lektyperna och att en viss skillnad finns även mellan Hanöbukten och Gotland. För kondition finns ingen skillnad mellan lektyperna under lekperioden. Skillnader finns istället mellan könen och mellan fångstområdena. Möjligheterna att använda morfometriska analyser för att identifiera lektyperna bör undersökas vidare eftersom stickprovet i denna studie var för litet för att vara tillförlitligt.

6. Tack

Jag vill tacka handledare Ann-Britt Florin, Sveriges Lantbruksuniversitet, för hjälp under projektets gång, handledare Leif Pihl, Göteborgs universitet, för tips och korrekturläsning, Anna Lingman, Jan Andersson och övrig personal på SLU Kustlaboratoriet i Simpevarp för stöd, hjälp och gästvänlighet, Martina Blass för metodtips, Olle Viberg och Thomas Dahl på båten Vingarö för samarbete vid provfiske, Amanda Nylund och Max Lindmark för korrekturläsning, Calle, mamma och pappa för stöd och uppmuntran.

Projektet finansierades av BONUS (Art 185) med medel från EU:s 7e ramprogram för forskning och utveckling och FORMAS.

7. Referenser

Bernes, C., 2005. "Förändringar under ytan – Sveriges havsmiljö granskad på djupet", Monitor 19, Naturvårdsverket.

Cadrin, S. X., 2005. "Landmark morphometric" Chapter 7 in Stock Identification Methodology, pp. 153-172. Edited by S. X. Cadrin, K. D. Friedland, and J. Waldman. Elsevier Academic Press, Amsterdam. 719 pp.

Cadrin, S. X., Friedland, K. D., 1999. "The utility of image processing techniques for morphometric analysis and stock identification", Fisheries Research, no. 43, 129-139.

- Cadrin, S. X., Silva, V. M., 2005. "Morphometric variation of yellowtail flounder", ICES Journal of Marine Science, no. 62, 683-694.
- Dytham, C., 2010. "Choosing and Using Statistics - A *Biologist's Guide*", Third edition, Wiley-Blackwell (an imprint of John Wiley & Sons Ltd).
- Florin, A.-B., 2005. "Flatfishes in the Baltic Sea – a review of biology and fishery with a focus on Swedish conditions", Finfo 2005:14, Fiskeriverket, Öregrund.
- Florin, A.-B., Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för Akvatiska Resurser. (Personlig kommunikation 2014-05-28)
- Florin, A.-B., Höglund, J., 2008. "Population structure of flounder (*Platichthys flesus*) in the Baltic Sea: differences among demersal and pelagic spawners", Heredity (2008) 101, 27–38.
- Hemmer-Hansen, J., Nielsen, E.E., Grønkjaer, P. & Loeschcke, V. 2007. "Evolutionary mechanisms shaping the genetic population structure of marine fishes; lessons from the European flounder (*Platichthys flesus* L.)", Molecular ecology, vol. 16, no. 15, 3104-3118.
- ICES, 2010. "Report of the ICES/HELCOM Workshop on Flatfish in the Baltic Sea (WKFLABA)", ICES CM 2010/ACOM:68.
- ICES, 2013. "Report of the Baltic Fisheries Assessment Working Group (WGBFAS)", ICES CM 2013/ACOM:10.
- Johannesson, K., André, C., 2006. "Life on the margin: genetic isolation and diversity loss in a peripheral marine ecosystem, the Baltic Sea", Molecular ecology, vol. 15, no. 8, 2013-2029.
- Laikre, L., Palm, S., Ryman, N., 2005. "Genetic population structure of fishes: implications for coastal zone management", Ambio, vol. 34, no. 2, 111–119.
- Marques, J.F., Teixeira, C.M., Cabral, H.N., 2006. "Differentiation of commercially important flatfish populations along the Portuguese coast: Evidence from morphology and parasitology", Fisheries Research, no. 81, 293–305.
- Matthäus, W., Lass, H.U., 1995. "The Recent Salt Inflow into the Baltic Sea", Journal of Physical Oceanography, vol. 25, no. 2, 280-286.
- McCoy, M.W., Bolker, B.M., Osenberg, C.W., Miner, B.G., Vonesh, J.R., 2006. "Size correction: comparing morphological traits among populations and environments", Oecologia, no. 148, 547–554.
- Nissling, A., Uppsala universitet, Campus Gotland. (Personlig kommunikation 2014-04-09)
- Nissling, A., Dahlman, G., 2010. "Fecundity of flounder, *Pleuronectes flesus*, in the Baltic Sea — Reproductive strategies in two sympatric populations", Journal of Sea Research vol. 64 (2010), 190–198.
- Nissling, A., Thorsen, A., da Silva, F. F. G., opublicerad. "Fecundity regulation in relation to habitat utilization of two sympatric flounder (*Platichthys flesus*) populations in the brackish water Baltic Sea".

Nissling, A., Westin, L., Hjerne, O., 2002. "Reproductive success in relation to salinity for three flatfish species, dab (*Limanda limanda*), plaice (*Pleuronectes platessa*), and flounder (*Pleuronectes flesus*), in the brackish water Baltic Sea", ICES Journal of Marine Science 59, 93–108.

Nissling, A., Widbom, B., Florin, A-B., Gydemo, R., 2014. "Utveckling av ett hållbart gotländskt flundrefiske – resursnyttjande och förvaltning", Elektronisk resurs, Hämtad 2014-05-27 från: <http://husbehovsfiskarna.se/hbf/wp-content/uploads/2014/03/FOG-FLUNDRA-RAPPORT.pdf>

The University of Texas, "Overall significance of the discriminant function(s)", Hämtad 2014-05-26 från: http://www.utexas.edu/courses/schwab/sw388r7/Tutorials/TwoGroupHatcoDiscriminantAnalysis_d oc_html/035_Overall_significance_of_the_discriminant_function_s_.html

Timmerman, M. E., 2005. "Factor analysis", Heymans Institute for Psychology, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen, February 05, 2005.

Turan, C., 1998. "A Note on The Examination of Morphometric Differentiation Among Fish Populations: The Truss System", Tropical Journal of Zoology, no. 23, 259-263.